Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT
FÜR
VERGLEICHENDE PHYSIOLOGIE

BEGRÜNDET VON

K. v. FRISCH UND A. KÜHN

HERAUSGEGEBEN VON

K. v. FRISCH
MÜNCHEN

E. v. HOLST
SEEWIESEN/OBB.

H. H. WEBER
HEIDELBERG

44. BAND, 2. HEFT

MIT 59 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 16. JANUAR 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Z. vergl. Physiol.

Preis DM 31.60

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. E. von Holst, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen/Obb. über Starnberg,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung, Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901 · Fernschreiber 04-61723

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301 · Fernschreiber 01-83319

---

44. Band — Inhaltsverzeichnis — 2. Heft

Seite

LÜDICKE, M., Die Kennzeichnung der Zuwachsstreifen in der wachsenden Konturfeder mit Hilfe von radioaktivem Natriumsulfat. Mit 36 Textabbildungen 133

JONES, N. R., and J. MURRAY, Nucleotide concentration in codling *(Gadus callarias)* muscle passing through *Rigor mortis* at O°. With 3 Figures in the Text 174

ROESSLER, H. P., Versuche zur geruchlichen Anlockung weiblicher Stechmücken *(Aedes aegypti* L., Culicidae). Mit 16 Textabbildungen . . . 184

SCHLABRITZKY, E., Untersuchungen am Herzschlag von Embryonen und Imagines der Wanderheuschrecke (Locusta migratoria migratorioides R. et F., Orthopteroidea). Mit 4 Textabbildungen 232

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 133—173 (1961)

Aus dem Zoologischen Institut der Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg

DIE KENNZEICHNUNG DER ZUWACHSSTREIFEN IN DER WACHSENDEN KONTURFEDER MIT HILFE VON RADIOAKTIVEM NATRIUMSULFAT

Von

MANFRED LÜDICKE

Mit 36 Textabbildungen

(Eingegangen am 3 August 1960)

Inhalt

Seite

A. Einleitung und Problemstellung 133
B. Versuchstiere und Methodik 135
C. Ergebnisse der Versuche mit isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösungen 136
a) Bei *Phoenicurus ochruros* 136
b) Bei *Pica pica* 143
c) Bei *Melopsittacus undulatus* 152
d) Bei *Leiothrix luteus* 167
e) Bei *Pyrrhula pyrrhula* 168
Zusammenfassung 170
Literatur 172

A. Einleitung und Problemstellung

Die Zuwachsstreifen der Vogelfeder werden in der anglo-amerikanischen Literatur unterschiedlich benannt: ribbing (MASCHA 1905), fundamental bars (WHITMAN 1907), watered barrings (FORBUSH 1929), feather bars (H. MICHENER, und JOSEPHINE R. MICHENER 1938), subordinated bars (GLEGG 1945) und growth bars (WOOD 1950). Im Französischen spricht man von barres transversales (MAYAUD 1950) und STRESEMANN (1927—1934) beschreibt sie einfach als schmale Zonen des täglichen Zuwachses. Sie sind also als solche bekannt, jedoch gehen die Meinungen über die Ursachen ihrer Entstehung beträchtlich auseinander, so daß WOOD (1950) seine Arbeit über die Zuwachsstreifen mit folgendem Satz abschloß: "The various aspects of growth bars at least deserve more attention than has been accorded them by ornithologists."

Nach dem gleichen Autor sind die folgenden 4 Merkmale für die Wachstumsstreifen kennzeichnend: Ihre im allgemeinen gleichförmige Ausbildung, ihre typische Erscheinungsform, das Maß ihrer Breite und schließlich der Winkel, den sie auf der Außen- und auf der Innenfahne der Feder mit ihrem proximalen Schaftteil bilden. Der Winkel der Zuwachsstreifen mit der Rhachis ist artspezifisch und variiert selten bei den verschiedenen Federn eines Vogels. Am basalen Federteil kann er allerdings etwas spitzer sein. STRONG (1902) führte den Unterschied

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. E. von Holst, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen/Obb. über Starnberg,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung, Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901 · Fernschreiber 04-61723

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301 · Fernschreiber 01-83319

---

44. Band — **Inhaltsverzeichnis** — **2. Heft**

Seite

LÜDICKE, M., Die Kennzeichnung der Zuwachsstreifen in der wachsenden Konturfeder mit Hilfe von radioaktivem Natriumsulfat. Mit 36 Textabbildungen 133

JONES, N. R., and J. MURRAY, Nucleotide concentration in codling *(Gadus callarias)* muscle passing through *Rigor mortis* at O°. With 3 Figures in the Text 174

ROESSLER, H. P., Versuche zur geruchlichen Anlockung weiblicher Stechmücken *(Aedes aegypti* L., Culicidae). Mit 16 Textabbildungen . . . 184

SCHLABRITZKY, E., Untersuchungen am Herzschlag von Embryonen und Imagines der Wanderheuschrecke (Locusta migratoria migratorioides R. et F., Orthopteroidea). Mit 4 Textabbildungen 232

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 133—173 (1961)

Aus dem Zoologischen Institut der Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg

DIE KENNZEICHNUNG DER ZUWACHSSTREIFEN IN DER WACHSENDEN KONTURFEDER MIT HILFE VON RADIOAKTIVEM NATRIUMSULFAT

Von

MANFRED LÜDICKE

Mit 36 Textabbildungen

(Eingegangen am 3 August 1960)

Inhalt

Seite

A. Einleitung und Problemstellung 133
B. Versuchstiere und Methodik 135
C. Ergebnisse der Versuche mit isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösungen 136
a) Bei *Phoenicurus ochruros* 136
b) Bei *Pica pica* 143
c) Bei *Melopsittacus undulatus* 152
d) Bei *Leiothrix luteus* 167
e) Bei *Pyrrhula pyrrhula* 168
Zusammenfassung 170
Literatur 172

A. Einleitung und Problemstellung

Die Zuwachsstreifen der Vogelfeder werden in der anglo-amerikanischen Literatur unterschiedlich benannt: ribbing (MASCHA 1905), fundamental bars (WHITMAN 1907), watered barrings (FORBUSH 1929), feather bars (H. MICHENER, und JOSEPHINE R. MICHENER 1938), subordinated bars (GLEGG 1945) und growth bars (WOOD 1950). Im Französischen spricht man von barres transversales (MAYAUD 1950) und STRESEMANN (1927—1934) beschreibt sie einfach als schmale Zonen des täglichen Zuwachses. Sie sind also als solche bekannt, jedoch gehen die Meinungen über die Ursachen ihrer Entstehung beträchtlich auseinander, so daß WOOD (1950) seine Arbeit über die Zuwachsstreifen mit folgendem Satz abschloß: "The various aspects of growth bars at least deserve more attention than has been accorded them by ornithologists."

Nach dem gleichen Autor sind die folgenden 4 Merkmale für die Wachstumsstreifen kennzeichnend: Ihre im allgemeinen gleichförmige Ausbildung, ihre typische Erscheinungsform, das Maß ihrer Breite und schließlich der Winkel, den sie auf der Außen- und auf der Innenfahne der Feder mit ihrem proximalen Schaftteil bilden. Der Winkel der Zuwachsstreifen mit der Rhachis ist artspezifisch und variiert selten bei den verschiedenen Federn eines Vogels. Am basalen Federteil kann er allerdings etwas spitzer sein. STRONG (1902) führte den Unterschied

zwischen den hellen und dunklen Wachstumsstreifen auf Pigment zurück, das sich in den Zellelementen der dunkleren Streifen in einer stärkeren Ablagerung lipochromhaltiger Körnchen findet. Auch in weißen Federn sollen in den entsprechenden Zonen bleiche, gelbe Körnchen beobachtet werden können.

Nach RIDDLE (1908) wird während der Nacht infolge der schlechten Ernährungsbedingungen die Bildung der Radiogenzellen gehemmt und daher eine schwach gefärbte Zone angelegt. Dabei soll nach WOOD (1950) mehr das Vorhandensein oder Fehlen der Nahrung an sich eine Rolle spielen als ihre Zusammensetzung. WHITMAN (1907) hatte beobachtet, daß die Zahl der Zuwachsstreifen, die sich also in einen mehr dunkleren und einen mehr helleren Teil gliedern, der Zahl der Wachstumstage entsprechen. Die Breite der Zuwachsstreifen ist unabhängig von der Größe des Vogels, die des nächtlichen Zuwachsteiles gleich der Tagesbreite; dabei aber können weniger Radii pro Längeneinheit in der dunklen Zuwachseinheit gefunden werden als in der hellen. Bei einigen Arten jedoch wie z. B. *Coccyzus a. americanus* und *Anas rubripes* sind die dunklen Teile dreimal so breit wie die nächtlichen hellen (WOOD 1950). Längere Federn haben beim gleichen Vogel eine größere Wachstumsrate pro Tag (GLEGG 1945). Die täglichen Zuwachsstreifen sind von den Fehlstreifen zu unterscheiden. Hierbei handelt es sich um Zonen der Federfahne mit weniger differenzierten oder verklebten Radien, die auch schlanke und fortsatzlose Zellen aufweisen können. Auch Krankheit kann die Ausbildung hakenloser pigmentarmer Radien auslösen (vgl. hierzu auch STRESEMANN 1927—1934).

Die physiologischen Grundlagen des täglichen Wachstumsrhythmus wurden unter anderem auch von LILLIE und WANG (1940) untersucht. In Anlehnung an Arbeiten von BACQ (1929) sowie von BAROTT, FRITZ, PRINGOE und TITUS (1938), die tägliche Schwankungen der Energieproduktion und des Gasstoffwechsels bei männlichen Rhodeländer Junghühnern feststellen konnten, wurden von jenen Autoren exakte Messungen des Federwachstums durchgeführt. Dabei wurde das geringste Federwachstum zwischen Mitternacht und 3 Uhr früh beobachtet, während die geringste Stoffwechselintensität 6 Std früher beobachtet werden konnte.

Zur Erklärung solcher Unterschiede sind ferner die Untersuchungen von LILLIE und JUHN (1932) interessant, wonach 90% des Längenwachstums auf Zelldifferenzierungen und nur 10% auf Plasmavermehrung zurückzuführen sind.

Nach LILLIE und WANG (1940) können auch Schwankungen der Körpertemperatur das Federwachstum beeinflussen. Sofern es nämlich angängig ist, Temperaturmessungen bei verschiedenen Vogelarten mit der Wachstumsrate der Federn vom Huhn miteinander in Beziehung zu

setzen, konnte von diesen Autoren der plötzliche Temperaturanstieg zwischen 3 und 4 Uhr früh gut mit der erhöhten Wachstumsrate der Federn zur gleichen Zeit in Einklang gebracht werden. Jedoch sind hier minutiöse Untersuchungen über Schwankungen der Körpertemperatur und der Wachstumsrate der Feder erforderlich. Bedeutungsvoll erscheint unter diesem Gesichtspunkt auch die Tatsache, daß bei Nachtvögeln die Schwankungen der Körpertemperatur ähnlich wie die Geschwindigkeit des Federwachstums invertiert sind.

Nach FRAPS und JUHN (1936) werden die "fault bars" als "isochrones" angesehen und damit zum Ausdruck gebracht, daß es sich hierbei um eine simultane Entwicklungsstörung in dem gesamten Gebiet der Keimzone handelt.

Daß bei der Ausbildung der Zuwachsstreifen Stoffwechselintensitätsschwankungen eine Rolle spielen, mag auch daraus hervorgehen, daß nach H. und JOSEPHINE MICHENER (1938) Unterschiede in dem deutlichen Hervortreten derselben nach den Jahreszeiten bestehen.

Das Problem der nachfolgenden Untersuchungen war also nicht nur ein rein morphologisches, sondern auch ein stoffwechselphysiologisches. Wir suchten daher nach einer Methode, die uns nicht nur die stoffwechselphysiologischen Intensitätsschwankungen meßbar demonstrierte, sondern auch den Ort und die Gestalt dieser von den Intensitätsschwankungen betroffenen Areale der wachsenden Vogelfeder aufzeigte. Wir fanden diese Methode in verschiedenen Applikationsweisen radioaktiver Isotope, in dem autoradiographischen Nachweis ihrer Ablagerungsorte in der Feder selbst und in dem chemischen Nachweis ihres Einbaues in die organische Substanz.

B. Versuchstiere und Methodik

Für die Versuche wurden verwendet:

Hausrotschwänze [*Phoenicurus ochruros* (GMELIN)],
Elstern [*Pica pica* (LINNÉ)],
Wellensittiche [*Melopsittacus undulatus* (GOULD)],
Sonnenvögel [*Leiothrix luteus* (SCOP.)] und
Dompfaffen [*Pyrrhula pyrrhula* (LINNÉ)].

Das radioaktive Isotop lag als trägerfreies $Na_2{}^{35}SO_4$ in sterilisierter isotonischer Kochsalzlösung (p_H 7) mit einer Aktivität von 1,0 bis 2,0 mC/ml vor.

Diese Lösung wurde entweder peroral gegeben oder beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur in verschiedener Konzentration und dementsprechend mit einer verschiedenen spezifischen Aktivität injiziert. Die Injektion erfolgte entweder während des normalen Gefiederwachstums im Jugendstadium oder während der Mauser bzw. nach der künstlichen Entfernung von Einzelfedern. Die Aktivität der Federn selbst wurde sowohl mit einem Geiger-Müller-Zählrohr und angeschlossenem Verstärker als auch durch autoradiographische Methoden nachgewiesen. Obwohl eine radioaktive Verschmutzung von außen her auf dem autoradiographischen Bild durchaus als solche erkennbar ist, wurden die Flügel einiger Versuchstiere zum Zwecke der absoluten Reinhaltung in Kunststofftaschen eingehüllt

(Abb. 1). Der störende Einfluß radioaktiver Ausscheidungen der Vögel konnte weitgehend durch über dem Boden der Käfige befindliche Drahtröste verhindert werden. Für bestimmte Beobachtungen des Federwachstums wurde die Temperatur sowie die Luftfeuchtigkeit der Versuchsräume kontrolliert.

Die Frage nach der Lokalisation des aufgenommenen Isotopes wurde nicht nur durch die autoradiographische Methode, sondern auch durch papierchromatographische Verfahren zu lösen versucht. Der im Keratin enthaltene Schwefel stammt hauptsächlich aus dem Cystin. Er wurde aus einem Federhydrolysat ausgefällt. Die Niederschläge wurden autoradiographisch und mit dem Geiger-Müller-Zählrohr geprüft. Zwecks Ausschließung der dabei möglicherweise auftretenden Verunreinigungen wurden Federhydrolysate ein- und zweidimensional auf SS 2043 b chromatographiert. Als Laufmittel fanden Butanol-Eisessig-Wasser bzw. Phenol-Wasser Verwendung. Die Aktivitäten der so erhaltenen schwefelhaltigen Aminosäuren waren sehr gering. Die radioaktive Strahlung wurde deshalb mittels eines Methandurchflußzählers (Frieseke-Hoepfner HF 448) nach Konzentrierung der schwefelhaltigen Aminosäuren mit Hilfe der Auswaschmethode (DECKER u. Mitarb. 1951) kontrolliert. Außerdem wurden Chromatogramme autoradiographisch geprüft. Für die Autoradiographie wurden höchstempfindliche Röntgenfilme (auf Blauunterlage) der Firma ADOX verwendet.

Abb. 1. *Melopsittacus undulatus*. Jungvogel mit Kunststoffhülle um den Flügel zur Verhinderung radioaktiver Verunreinigung der Federn

C. Ergebnisse der Versuche mit isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösungen

a) Bei Phoenicurus ochruros

Jungen Hausrotschwänzen im Alter von etwa 19 Tagen und einem Gewicht von 13—14 g wurden je 0,2 ml der obengenannten $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung rechts und links der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert. Die applizierte Menge entsprach einer radioaktiven Strahlung von insgesamt 0,4 mC je Vogel.

Die Injektion erfolgte um 15^{45} Uhr. Die Jungvögel wurden in einem Käfig unter einem Dachfirst gehalten, so daß die Elterntiere auch nach der Behandlung der Jungvögel die Möglichkeit hatten, diese zu füttern.

Nach 3 Tagen und 15 Std wurden die Schwung- und Schwanzfedern dieser Vögel auf ihre radioaktive Strahlung hin mit dem Geiger-Müller-Zählrohr unter Verwendung einer Stanniolblende (10 × 6,5 mm) abgetastet.

Als Beispiel mögen hier die Meßwerte der achten rechten Handschwinge eines Jungvogels angeführt werden. Diese Werte sind nach Abzug des Nulleffektes auf den Strahlungswert des Applikationsdatums — entsprechend der Halbwertszeit von ^{35}S — umgerechnet worden.

In der beigegebenen Umrißzeichnung (Abb. 2) der Feder sind die einzelnen Abschnitte der mit Hilfe der Stanniolblende ausgewerteten Federabschnitte aufgezeichnet. Die Meßwerte zeigen eine starke Strahlung insbesondere im 1., 2. und 3. Abschnitt. In den folgenden Abschnitten fällt die Strahlung weiter gleichmäßig bis auf etwa 18,9 Impulse pro Minute ab. Danach wäre also keine besondere Zone radioaktiver Strahlung entsprechend dem Applikationsdatum und der Wachstumsgeschwindigkeit der Feder feststellbar. Die Feder wurde daraufhin wenige Minuten in Wasser gekocht, da angenommen werden konnte, daß die starke Spitzenstrahlung in keiner Weise mit dem möglicherweise eingebauten Schwefel in Zusammenhang zu bringen sei. Vielmehr war mit einer Spitzenverschmutzung der Feder mit radioaktivem Kot zu rechnen. Der eingedampfte Rest des Waschwassers hatte dann tatsächlich eine beträchtliche Radioaktivität von 365 Impulsen pro Minute.

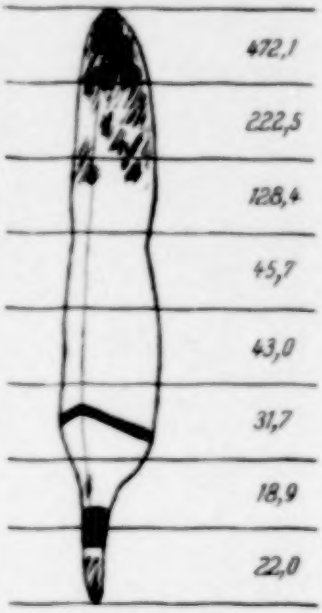


Abb. 2. *Phoenicurus ochruros.* Umrißzeichnung der rechten 8. Handschwinge mit den eingetragenen Meßabschnitten und den umgerechneten Strahlungswerten in Impulsen je Minute (rechts). Die Spitzenverschmutzung durch radioaktive Exkretstoffe sowie die leicht gewinkelte Querzone radioaktiver Strahlung und die Strahlungsmaxima im Spulenbereich sind schwarz eingezeichnet. Vergr. 1,3fach

Tabelle 1. *Phoenicurus ochruros.* Die auf das Applikationsdatum umgerechneten Meßwerte (Impulse je Minute) der 8. Handschwinge rechts entsprechend Abb. 2, aber nach dem Auswaschen mit kochendem Wasser

Abschnitt	Meßwert	Abschnitt	Meßwert
1	66,9	5	3,8
2	6,9	6	14,3
3	4,1	7	17,7
4	0,6	8	10,9

Die beigefügte Tabelle (Tabelle 1) gibt die Meßwerte für die radioaktive Strahlung nach dem Waschen der Feder wieder und zeigt, daß die Spitzenverschmutzung zwar nicht ganz verschwindet, aber doch geringer geworden ist. Im 3., 4. und 5. Abschnitt lag die Strahlung nur unwesentlich über dem Nulleffekt, während sie im 6., 7. und 8. Meßabschnitt wieder stärker anstieg. Dies ist um so bemerkenswerter, als in diesem Abschnitt die Federfläche entsprechend der beigegebenen Zeichnung kleiner war als in den Abschnitten 1—5. Wenn also wirklich eine

Aufnahme des radioaktiven Isotopes durch die Feder erfolgt war, so mußte sie in diesem Bereich zu suchen sein. Aufschluß darüber gab die Autoradiographie (Abb. 3). Sie zeigte im 6. Meßabschnitt eine schwach gewinkelte Querzone radioaktiver Schwärzung und im 7. sowie im 8. Meßabschnitt, d. h. also im Bereich der Federbasis, zwei weitere Maxima an dem Umbilicus inferior sowie einige Millimeter weiter distal. Die Spule und die Scheide wurden ebenfalls auf ihre Strahlung hin kontrolliert und ergaben beide Werte, die alle deutlich über dem Nulleffekt lagen. Die Strahlung des basalen Federteiles kann ihre Ursache haben in ^{35}S-haltigen Blutresten oder anderen ^{35}S-haltigen Coriumteilen. Auch kann natürlich daran gedacht werden, daß die Keimzone und die keratogene Zone im Augenblick der Federentfernung mit diesem Isotop angereichert werden. Die Autoradiographie der rechten Handschwingen sowie die ebenfalls nur als Beispiel angegebenen Autoradiographien der rechten Armschwingen und linken Schwanzfedern zeigen alle die genannten Strahlungsmaxima im Spulenbereich und die leicht gewinkelten Querzonen intensiver Strahlung auf der Federfahne (Abb. 4, 5 und 6). Vor allem ist die insbesondere an den Federspitzen vorhandene Verschmutzung mit radioaktiven Exkretstoffen deutlich als solche differenzierbar. Bei den rechten Handschwingen ist die 9., da sie für chemische Aufschlußversuche verwendet wurde, auf der Autoradiographie weggelassen worden. Bemerkenswert ist der geringe Abstand der radioaktiven Querzone der 10. (kleinsten) Handschwinge von der Federwurzel.

Abb. 3. *Phoenicurus ochruros*. Negativ einer Autoradiographie der 8. rechten Handschwinge nach dem Waschen in kochendem Wasser zur Demonstration der leicht gewinkelten Querzone. Die Spule wurde für chemische Aufschlußzwecke entfernt. Vergr. 2,9fach

Der Abstand der Querzone von der Federwurzel lag bei den anderen Handschwingen bei etwa 15,6—18,5 mm. Auch bei den mittleren kleinsten Schwanzfedern, in der Abbildung links, war die Querzone radioaktiver Strahlung näher der Federbasis als bei den übrigen Schwanzfedern.

Eine Gegenüberstellung der Abstände der Querzone von der Federbasis mit den Längenwerten der Federn ergibt, daß neben ihrer Länge

auch der zeitlich verschiedene Abschluß im Wachstum der einzelnen Federn für die Höhe des Quotienten eine maßgebende Rolle spielt. Die Tabelle 2 gibt als Beispiel für die rechten Handschwingen, Armschwingen

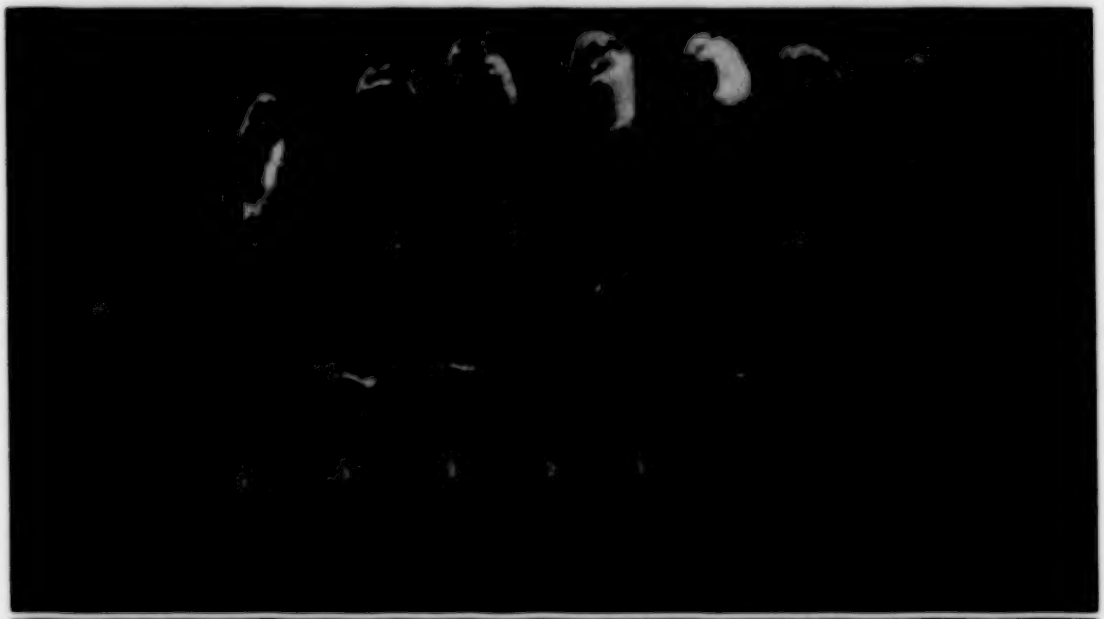


Abb. 4

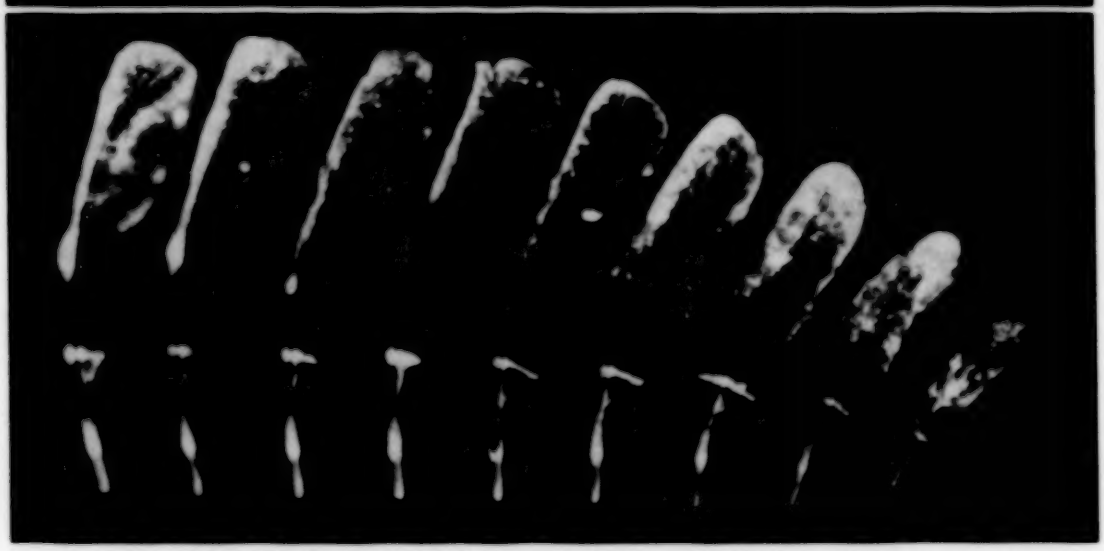


Abb. 5

Abb. 4. *Phoenicurus ochruros.* Negativ der Autoradiographie der 1.—8. und der 10. Handschwinge rechts. Man beachte die beiden Strahlungsmaxima im Spulenbereich sowie die Querzone. Die Verschmutzung durch radioaktiven Kot und Exkretstoffe ist von diesen Erscheinungen deutlich differenzierbar. Nat. Größe

Abb. 5. *Phoenicurus ochruros.* Negativ der Autoradiographie der 1.—9. Armschwinge rechts. Auch hier sind die Querzonen und die Maxima im Spulenbereich deutlich erkennbar. Besonders im distalen Federteil erkennt man eine starke radioaktive Verschmutzung durch Exkretstoffe. Nat. Größe

und linken Schwanzfedern die gemessenen Längenwerte der Federn im Vergleich zu den Abständen der radioaktiven Querzone von der Basis bzw. zu den Abständen des distalen basalen Maximum wieder. Die

Tabelle 2. *Phoenicurus ochruros.* Die Werte der Federlängen der rechten Hand- der radioaktiven Querzone von der Basis und dem Abstand des distalen Strah- Das Fehlen der Werte einzelner weniger Federn liegt in der chemischen Aufarbeitung präparates sind abzüglich der Spulenlänge in Klammern zugefügt. Die

Ordnungszahl der Federn	Handschwingen (rechts)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gesamtfederlänge (a)	50,8 (56,0)	51,5 (56,0)	52,5 (57,0)	54,5 (59,0)	54,2 (65,0)	52,5 (67,0)	50,5 (67,0)	46,7 (65,0)	—	23,0 (20,0)
Abstand der radioaktiven Querzone von der Basis (Mitte der Querzone) (b)	16,10	16,90	16,90	18,00	18,50	17,80	16,90	15,60	—	5,08
Abstand des distalen, basalen Strahlungsmaximum (hellste Zone im Negativ) von der Basis (c)	5,56	5,25	5,56	6,24	6,55	6,40	6,07	5,08	—	1,15
a/b	3,16	3,05	3,10	3,03	2,94	2,95	3,00	3,00	—	4,52
b/c	2,90	3,22	3,04	2,88	2,82	2,78	2,78	3,07	—	3,28
Länge der distalen Strahlungszone (Maximum) der Federbasis	2,46	2,78	2,78	2,95	2,78	2,95	2,46	2,30	—	0,41

Ordnungszahl der Federn	Schwanzfedern (links)					
	1	2	3	4	5	6
Gesamtfederlänge (a)	29,0 (58,0)	32,0 (58,0)	31,8 (59,0)	33,4 (59,0)	33,3 (59,0)	31,0 (58,0)
Abstand der radioaktiven Querzone von der Basis (Mitte der Querzone) (b)	13,50	14,50	14,20	14,60	14,80	13,80
Abstand des distalen, basalen Strahlungsmaximum (hellste Zone im Negativ) von der Basis (c)	5,00	5,40	5,50	5,80	5,80	5,30
a/b	2,25	2,21	2,24	2,29	2,26	2,24
b/c	2,70	2,68	2,58	2,52	2,55	2,60
Länge der distalen Strahlungszone (Maximum) der Federbasis	1,00	1,00	0,90	1,00	1,20	0,80

ebenfalls in der Tabelle aufgeführte Länge des basalen Maximum ist in gewisser Weise nur relativ zu werten, da diese von der Belichtungszeit der Röntgenplatte abhängig ist. Für die Beurteilung des Federwachstums

schwingen, Armschwingen und linken Schwanzfedern im Vergleich zum Abstand lungsmaximum von der Basis sowie die Länge der distalen, basalen Strahlungszone. dieses Materials begründet (z.B. 9. Handschwinge). Die Federlängen eines Balg- Spulenlänge kann im Durchschnitt mit etwa 10% veranschlagt werden.

Armschwingen (rechts)								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
49,5 (56,0)	50,5 (55,0)	50,0 (54,0)	49,5 (52,0)	47,0 (50,0)	44,0 (47,0)	40,0 (44,0)	34,0 (36,0)	26,0 (26,0)
15,50	15,50	15,20	15,20	14,50	14,00	13,80	11,80	8,50
5,50	5,50	5,30	5,30	5,80	5,20	5,20	4,50	2,80
3,19	3,26	3,29	3,26	3,31	3,12	2,92	2,88	2,99
2,82	2,82	2,87	2,87	2,74	2,69	2,66	2,62	3,04
2,70	2,70	2,20	2,40	2,20	1,80	1,70	1,20	0,50

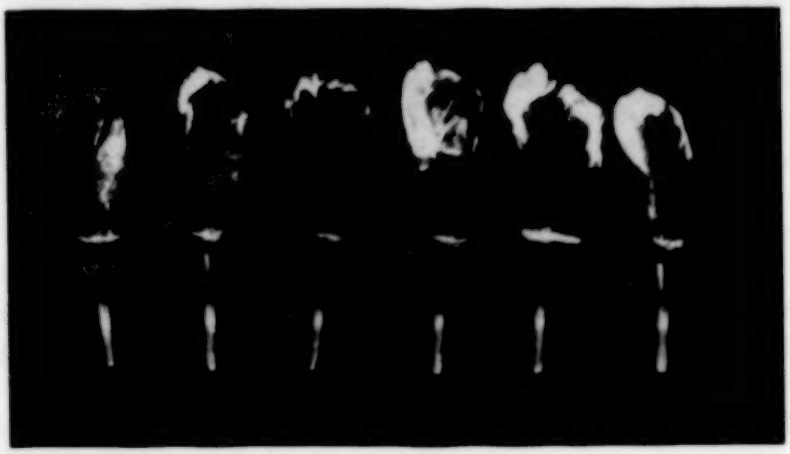


Abb. 6. *Phoenicurus ochruros*. Negativ einer Autoradiographie der linken Schwanzfedern Im übrigen wie Abb. 4 und 5. Nat. Größe

im Vergleich zu den in der Tabelle 2 angegebenen Werten ist es von Interesse zu wissen, daß an einem erwachsenen männlichen Vogel die Längenwerte für die Handschwingen, Armschwingen und Schwanzfedern — jedoch abzüglich der Spulenlänge — den eingeklammerten Werten der Tabelle 2 entsprechen. Nimmt man also z.B. für die 10. Handschwinge den gemessenen Längenwert von 20 mm und zählt dazu die Längenwerte einer zugehörigen Spule von 3 mm, so ergibt sich daraus

der Hinweis, daß die 10. Handschwinge des Versuchsvogels als fast oder vollständig ausgewachsen zu gelten hat, da ihre Gesamtlänge mit 23 mm gemessen wurde. Es könnte also der Quotient a/b in der Tabelle allein schon wegen des im Abschluß begriffenen Wachstums dieser Feder während der Versuchszeit höher liegen als der Quotient der übrigen, noch deutlich im Wachstum begriffenen Handschwingen. Diese Unterschiede kommen allerdings bei den Armschwingen nicht zum Ausdruck, während die Schwanzfedern bei weitem noch nicht ihre volle Länge hatten. Die rechtsseitigen Werte lagen entsprechend und unterstrichen somit die Ergebnisse.

Die radioaktive Querzone auf der Federfahne läßt an sich den Verdacht aufkommen, daß es sich hierbei um eine Ablagerung des radioaktiven Isotops handelt, die in etwa einem Zuwachsstreifen entsprechen könnte. Wenn dies wirklich der Fall ist, dann muß ein weiteres kennzeichnendes Merkmal dieser Zuwachsstreifen auch für die radioaktive Querzone Geltung haben. Es müßte der Winkel, den beide mit dem proximalen Schaftteil bilden, übereinstimmen, soweit es sich um gleiche Zonen auf der Federfahne handelt. Bei den Versuchsvögeln wurden für die Handschwingen ein Winkel von 69,7°, für die Armschwingen ein solcher von 70,4° und für die Schwanzfedern ein solcher von 82,4° gemessen.

Die Zuwachsstreifen und damit auch ihre Winkel sollen nach WOOD (1950) durch die röntgenographische Analyse und fluoreszenzmikroskopische Beobachtung, sowie im UV-Licht nicht darstellbar sein. Es bleibt also allein die Ausmessung des Winkels der Zuwachsstreifen mit dem proximalen Schaftteil mittels Beobachtung im schräg auffallenden Licht übrig. Einen Vergleich der Winkel der natürlichen Zuwachsstreifen bei den Handschwingen, Armschwingen und Schwanzfedern mit den radioaktiven Querzonen bei den gleichen Federgruppen gibt die Tabelle 3 wieder. Die relative Kürze der Versuchsdauer bedingt die basale Lage der radioaktiven Querzone. Die Differenzen zwischen den Winkelwerten der natürlichen Wachstumsstreifen und den radioaktiven Querzonen sind gering.

Die Änderung der Winkel der Zuwachsstreifen mit der proximalen Rhachis war bei verschiedenen Abständen von der Federbasis nicht sehr hoch und lag größtenteils in der Fehlergrenze des Ablesens. Es bestand eine gewisse Tendenz zum Kleinerwerden des genannten Winkels zur Federbasis hin.

Die Winkel der radioaktiven Querzone lassen also die Möglichkeit einer Zuordnung dieser mit den Zuwachsstreifen an sich als sehr wahrscheinlich erkennen. Man könnte aber überlegen, ob nicht auch die Breite der Strahlungszone in irgendeine Beziehung zu derjenigen der natürlichen Wachstumszone gebracht werden kann.

Tabelle 3. *Phoenicurus ochruros.* Vergleich der Winkel der natürlichen Zuwachsstreifen (b) bei Handschwingen, Armschwingen und Schwanzfedern mit denen der radioaktiven Querzonen (r) der gleichen Federgruppen. Es wurden bei den Hand- und Armschwingen die Meßwerte der Innenfahne, bei den Schwanzfedern aus technischen Gründen diejenigen der Außenfahne verwendet.

Ordnungszahl der Federn	Handschwingen rechts		Handschwingen links		Armschwingen rechts		Armschwingen links		Schwanzfedern rechts		Schwanzfedern links	
	b	r	b	r	b	r	b	r	b	r	b	r
1	71	72	69	69	70	71	70	69	87	89	87	85
2	70	69	72	73	70	71	69	67	82	82	77	80
3	72	71	71	73	70	68	67	69	82	81	80	81
4	70	68	73	68	71	70	69	72	85	82	81	84
5	70	71	73	69	69	68	72	73	81	78	88	85
6	69	69	70	70	71	69	70	72	85	83	82	79
7	71	71	70	67	72	69	73	73				
8	68	67	70	69	73	73	71	73				
9	—	—	—	—	70	69	—	—				
10	70	69	69	70	—	—	—	—				

Bei dieser Fragestellung hat man die Schwierigkeiten in Betracht zu ziehen, die bei einer verschiedenen Expositionsdauer des Röntgenfilmes gegeben sind. Bei zu hoher Expositionszeit kann es auf den Röntgenfilmen zu Überstrahlungen kommen, wie das an Hand der Aderung des Insektenflügels in einer früheren Arbeit bereits diskutiert wurde (Lüdicke 1955). Auch eine zu niedrige Expositionszeit schließt natürlich ähnliche Fehlerquellen — nur mit negativem Vorzeichen — in sich.

Die Breite der natürlichen Wachstumszone kann bei den großen Handschwingen mit etwa 5,5 mm im Durchschnitt veranschlagt werden. Eine genauere Beobachtung zeigt, daß sie auch noch in sich in 3—4 Paar helle und dunkle Streifen gegliedert sein kann. Daraus würde man auf einen zusätzlichen Rhythmus schließen können. Die Breiten der radioaktiven Querzonen lagen für die linken Handschwingen, wie sie hier als Beispiel angeführt werden mögen, zwischen 0,5 und 0,6 mm, wenn man von dem niedrigeren Wert der 10. Handschwinge von 0,45 mm absieht. Das heißt also, daß die radioaktive Querzone der Handschwingen sicher in ihrer Breite schmaler war als diejenige der Wachstumszone. Die geringere Breite der radioaktiven Querzonen im Vergleich zu den Wachstumszonen gilt auch für die übrigen Hand- und Armschwingen, sowie für die Schwanzfedern.

b) Bei Pica pica

In ähnlicher Weise wie bei den Versuchen mit jungen Rotschwänzen wurde auch jungen Elstern im Alter von 6,5 Wochen 0,8 mC einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung je zur Hälfte auf die rechte und linke Seite in die Brustmuskulatur injiziert. Zum Unterschied von den Versuchen an den Rotschwänzen wurde aber 13 Tage später noch einmal eine zweite Dosis in gleicher Höhe und am gleichen Ort verabfolgt.

Orientierende Versuche hatten nämlich gezeigt, daß bei Elstern die radioaktive Sulfatlösung verhältnismäßig schnell wieder ausgeschieden wird. In einem Versuch konnte beispielsweise festgestellt werden, daß der Kot bereits 27 min nach der intramuskulären Applikation stark radioaktiv war. Bei ^{35}S-DL-Methionin konnte eine Radioaktivität des Kotes sogar schon 15 min nach der Injektion registriert werden.

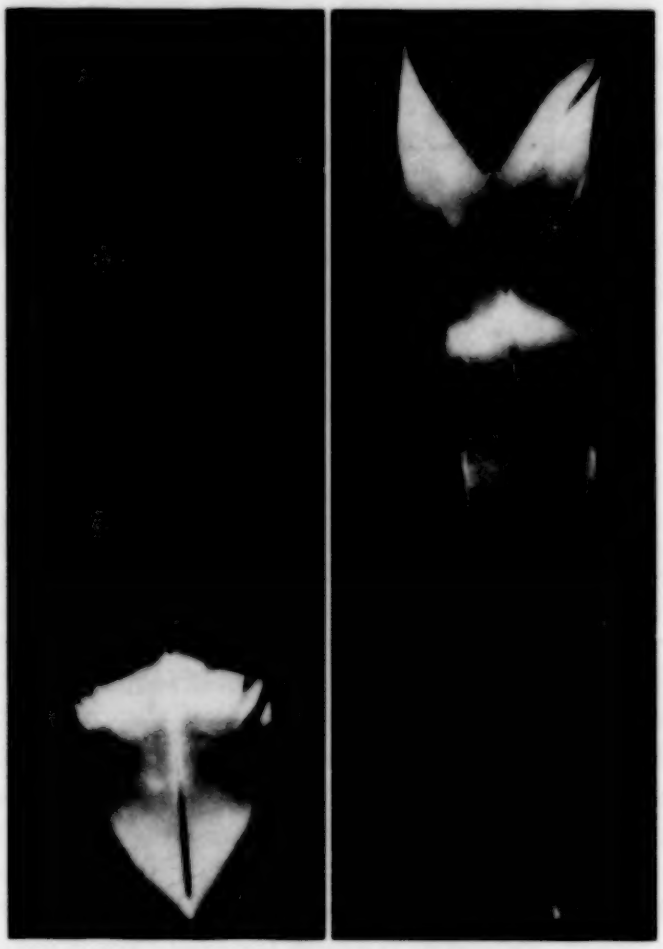


Abb. 7. *Pica pica*. Negativ der Autoradiographie einer für diese Zwecke geteilten 1. rechten Schwanzfeder eines Jungtieres nach 2maliger Injektion einer isotonischen radioaktiven Sulfatlösung. Die Feder wurde 21 Tage nach der 2. Injektion entfernt. Expositionszeit 14 Tage. Ventralansicht. 0,9fach

Die probeweise Entfernung der ersten rechten Schwanzfeder erfolgte 3 Wochen nach der zweiten Applikation. Die Feder wurde für Autoradiogrammzwecke geteilt. Abb. 7 gibt die entsprechenden Negative der Autoradiographie wieder. Auf diesen sind deutlich zwei radioaktive Querzonen, wie sie auch den beiden Applikationen der isotonischen radioaktiven Sulfatlösung entsprechen, zu erkennen. Eine Messung des Winkels der oberen radioaktiven Querzone mit dem proximalen Schaftteil ergab mit der Außenfahne einen Wert von 75,0°, für die Innenfahne einen solchen von 73,5°. Diesen beiden Winkelwerten der radioaktiven Querzone entsprechen Werte der Winkel der natürlichen Zuwachsstreifen mit dem proximalen Schaftteil in Höhe von 75,8° und 74,3° für die Außen- bzw. Innenfahne an der gleichen Feder. Eine Betrachtung der Autoradiographie unter der Lupe ergab, daß der geschwärzte Ramusteil der Querzone nicht senkrecht zu deren distaler bzw. proximaler Kante verlief, d. h. er war um ein geringes länger als die Breite der radioaktiven Querzone selbst. Auch diese Beobachtung stimmt gut mit dem relativen Verlauf der natürlichen Zuwachsstreifen zu dem Verlauf der Rami überein.

Die Injektionen der isotonischen radioaktiven Sulfatlösungen lagen 13 Tage auseinander; während dieser Zeit wuchs die Feder von einer äußeren Länge von 86 mm auf 132 mm, also um 46 mm (vgl. Kurvenbild Abb. 8). Die Entfernung der oberen Kanten der Querzonen beträgt 49 mm, die der unteren 47 mm, ein Unterschied, der durch die größere Strahlungsbreite der oberen Querzone bedingt ist. Die obere Querzone war nämlich 4,5 mm breit, die untere im Mittel 3 mm.

Bei einem Abstand der radioaktiven Querzone von 49 mm wird bei einer Versuchsdauer von 13 Tagen zwischen den beiden Injektionen ein täglicher Zuwachs von 3,78 mm pro Tag errechnet. Nimmt man dagegen als Grundlage für die Berechnung die natürliche Verlängerung der Feder um 46 mm, so würde sich ein täglicher Längenzuwachs von 3,54 mm ergeben. Dieser Unterschied zwischen der täglichen Zuwachsrate der Feder gemäß der Lage der radioaktiven Querzone zu der wirklichen in der Längenmessung der Feder zum Ausdruck kommenden täglichen Verlängerung derselben ist an sich nicht sehr groß.

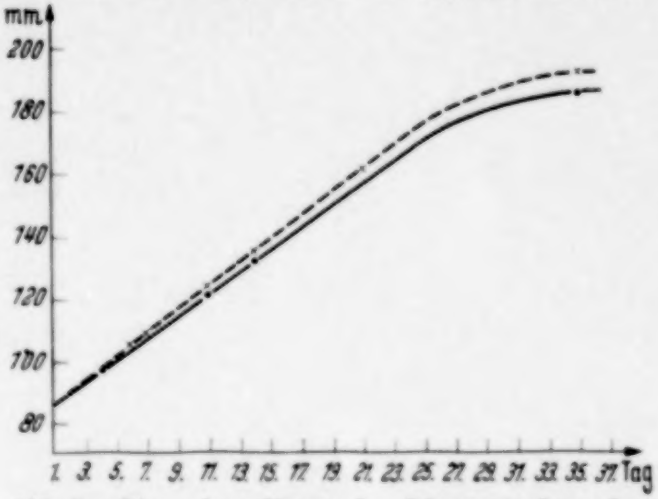


Abb. 8. *Pica pica.* Kurve der Längenzunahme der 2. linken Schwanzfeder eines Jungvogels (——) im Vergleich zu der auf Grund einer 2fachen Markierung mit radioaktivem Schwefel errechneten Zuwachskurve(— — —)

Das beigegebene Kurvenbild zeigt einwandfrei, daß die Längenmessungen der Feder während ihres Wachstums recht genau sind. Die auf Grund des Abstandes der radioaktiven Querzone berechnete Zuwachsgerade liegt aber etwas höher als die Gerade der durch Längenmessung gewonnenen Werte. Ein Grund für den unterschiedlichen Winkel dieser beiden Geraden mag unter anderem darin liegen, daß die junge Spitze der wachsenden Schwanzfeder einer Elster einer gewissen Abnutzung unterworfen ist. Außerdem könnte auch ein Transport des radioaktiven Isotopes innerhalb des dorsalen und ventralen Coriumraumes (Greite 1934) analog den Untersuchungen von Bern, Harkness und Blair (1955) an Mäusen stattgefunden haben. Das würde heißen, daß am ersten Applikationstag die Bildung der obersten radioaktiven Querzone auch oberhalb der Oberflächenschicht der Epidermis erfolgt ist. Abnutzung und die über die Epidermisoberfläche hinausragenden Coriumteile könnten also der Grund dafür sein, daß die oberste radioaktive Querzone nach Versuchsende nur 70 mm von der Federspitze entfernt war, während der frei herausragende Teil des Federschaftes am ersten Injektionstag dagegen eine Länge von 86 mm aufwies.

Die Abb. 9 zeigt das Negativ der Autoradiographie der übrigen rechten Schwanzfedern, d. h. mit Ausnahme der bereits besprochenen und in der Abb. 7 wiedergegebenen ersten rechten Schwanzfeder.

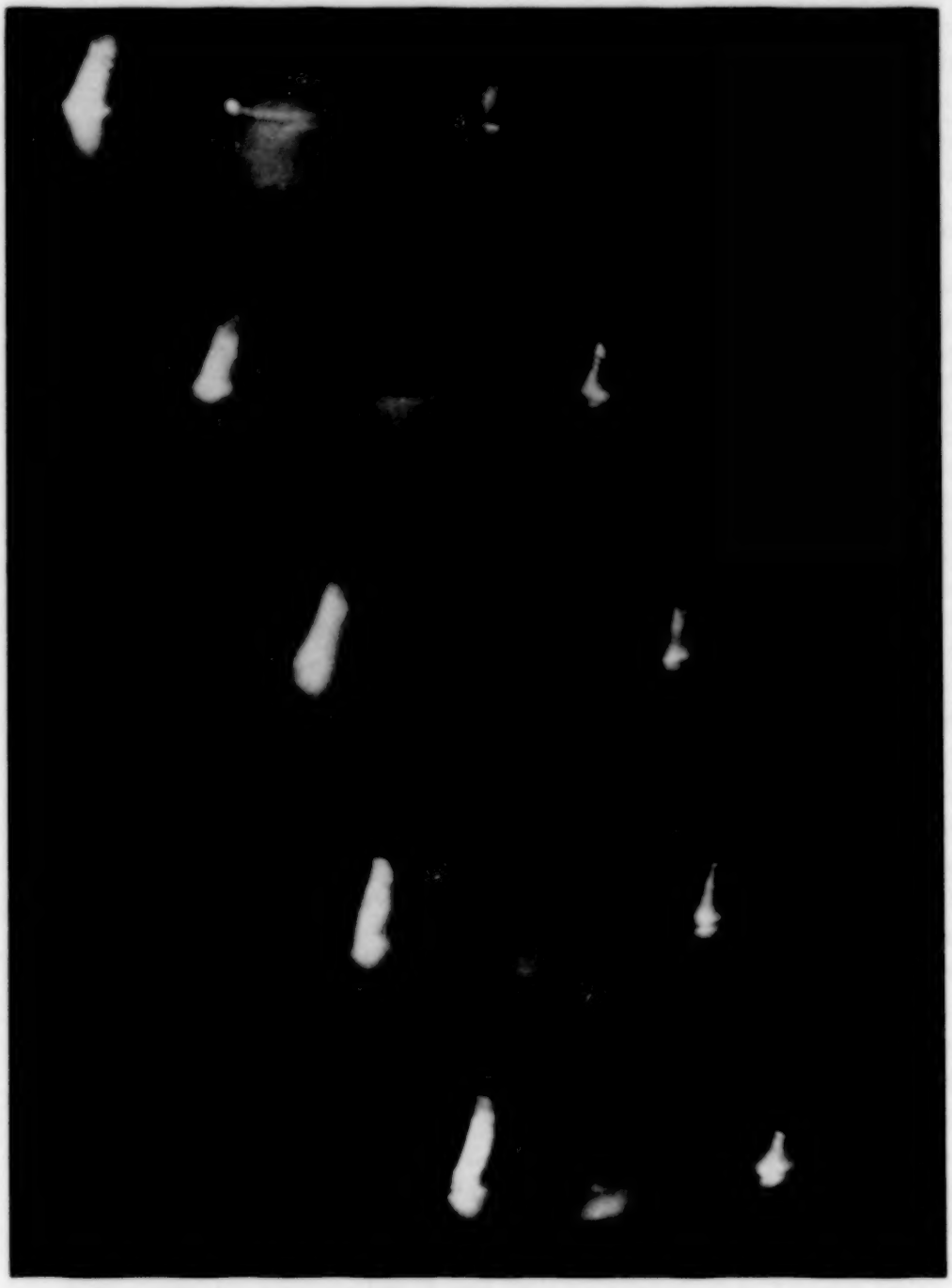


Abb. 9. *Pica pica*. Negativ einer Autoradiographie der 2.—6. Schwanzfeder eines Jungvogels nach doppelter Applikation von je 0,8 mC einer isotonischen sterilen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung. Die Applikationszeiten lagen 13 Tage auseinander. Beachte die zwischen der proximalen und distalen radioaktiven Querzone gelegene breite Strahlungszone. Bei der 1. Injektion war das Tier 7 Wochen alt. Nat. Größe

Beachte hierbei die entsprechend der Federgröße schwankenden Abstände der radioaktiven Querzonen. Je länger die Feder ist, um so weiter ist absolut genommen, aber nicht relativ der Abstand der dem 1. und 2. In-

jektionstag entsprechenden radioaktiven Querzonen. Die Abstandswerte der radioaktiven Querzonen für die 1.—5. rechte Steuerfeder liegen bei 49,0, 49,0, 46,5, 43,5, 41,0 und 37,0 mm. Die 1. und die 2. Steuerfeder zeigen also, obwohl sie in ihrer Länge differieren, keinen Unterschied in dem Abstand ihrer radioaktiven Querzonen. Möglicherweise ist bei ihnen während dieser Wachstumsphase bereits die Maximalgeschwindigkeit im Wachstum erreicht. Für die übrigen Steuerfedern ist eine Analogie mit den für die Rotschwänze ermittelten Befunden insofern gegeben, als auch die Abstände der radioaktiven Querzonen von der Federspitze bzw. ihrer Basis mit der Federlänge koordinierbar sind. Ferner fällt auf, daß die distale radioaktive Querzone eher breiter war als die proximale, obwohl in beiden Fällen die gleiche Dosis des radioaktiven Materials injiziert wurde. Hierfür könnte, da in beiden Fällen auch der gleiche Applikationsort gewählt wurde, eine unterschiedliche Aufnahmefähigkeit des Federmaterials zu den verschiedenen Zeiten des Federwachstums auch in Betracht gezogen werden. Bei den Schwanzfedern der jungen Elstern, denen zweimal im Abstand von 13 Tagen eine isotonische radioaktive $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung injiziert wurde, konnten auf der Autoradiographie und ihren Negativen (Abb. 9) außer der distalen und proximalen radioaktiven Querzone eine dazwischengelegene breite, wenn auch nicht ganz so intensive Strahlungszone festgestellt werden. Zwischen dieser breiten Strahlungszone und der distalen bzw. proximalen radioaktiven Querzone wurden weitere rhythmische Ablagerungen des Isotopes beobachtet, die dem Rhythmus des natürlichen Wachstums zugeordnet werden konnten. Das Zustandekommen einer breiten radioaktiven Querzone nach jeweils einer schmalen dem Applikationstag zuzuordnenden radioaktiven Querzone könnte damit in Zusammenhang gebracht werden, daß im Organismus für die Ablagerung des radioaktiven Isotopes in der breiten Querzone eine längere Zeit, also ein stoffwechselphysiologisch gesehen längerer Weg benötigt wird als für die Ablagerung des Isotopes in den schmalen radioaktiven Querzonen. Auf Grund der Entfernung der breiten Strahlungszone von der schmalen radioaktiven Querzone kann gesagt werden, daß jene etwa am 5., 6. und 7. Tag nach der Injektion in der Feder angelegt wurde. Untersuchungen der Strahlungsintensität des Kotes bzw. der Exkrete ergaben, daß jene nach 7 Tagen nur noch sehr schwach war. Auffällig ist, daß der distale Rand von der breiten Strahlungszone dem Winkel der natürlichen Zuwachsstreifen mit dem proximalen Rhachisteil nicht zugeordnet werden kann, während das für den proximalen Rand der breiten Strahlungszone bis zu einem gewissen Grade möglich ist.

Abb. 10 gibt die kurvenmäßige Auswertung der verschiedenen radioaktiven Querzonen der Steuerfedern einer anderen, ebenfalls zweifach gespritzten Elster wieder. Die Injektionszeiten waren auch hier

13 Tage voneinander entfernt. Das Diagramm erlaubt eine genaue Zuordnung der breiten radioaktiven Querzonen zu den entsprechenden schmalen für die verschiedenen Federn und gibt einen Einblick in die Genauigkeit der Auswertung der Autoradiographien. Aus dieser kurvenmäßigen Darstellung geht ebenfalls hervor, daß große Federn des gleichen Federtyps und in der gleichen Wachstumsphase relativ gesehen kleinere Zuwachsraten zeigen als kleine, denn der Quotient Gesamtlänge geteilt durch den Abstand der radioaktiven Querbänder ist bei jenen größer als bei diesen.

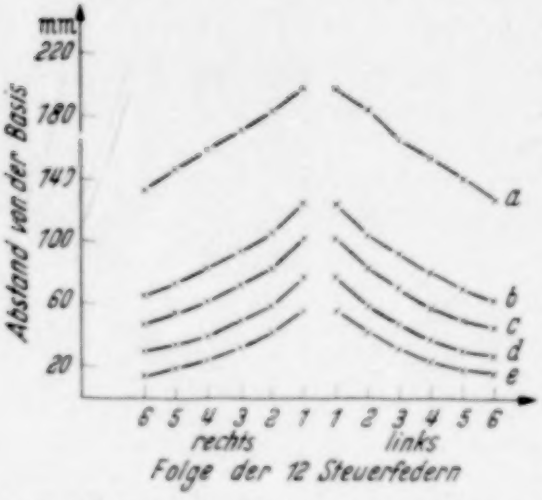


Abb. 10. *Pica pica*. Diagramm der Auswertung zweier durch Doppelinjektion entstandener schmaler radioaktiver Querzonen (*b* und *d*) mit ihren beiden zugehörigen breiten Strahlungszonen (*c* und *e*) und in Abhängigkeit zur Federlänge (*a*), gemessen an den Schwanzfedern eines anderen Jungvogels. Ordinate: Abstände der Maxima von der Basis in Millimetern. Abszisse: Folge der 12 Steuerfedern

Die großen Elsternfedern boten auch die Möglichkeit, das Problem der Verunreinigungen durch äußerliche Verschmutzung mit radioaktivem Kot bzw. Exkretstoffen zu studieren. Grundsätzlich erhebt sich nämlich die Frage, ob die durch die Injektionen hervorgerufenen Querzonen auf einer Schwärzung der Rami oder der Zwischenräume zwischen denselben beruhen. Auf Grund unserer Versuche an in Kunststofftaschen eingehüllt wachsenden Federn und auf Grund von einzeln oder unregelmäßig liegenden Rami kann gesagt werden, daß es diese selbst sind, die die Strahlung hervorrufen, ein Befund, der an und für sich auch nach den papierchromatographischen Untersuchungen, die das Vorhandensein des Isotops in radioaktiven Aminosäuren beweisen, gefordert werden muß. Wie steht es aber nun mit der Autoradiographie verschmutzter Federteile? Eine genaue Betrachtung der Röntgenfilme unter dem Binokular und ihr Vergleich mit dem entsprechenden Federmaterial ergibt auch hier, daß es abgesehen von groben, fleckenartigen Verunreinigungen ebenfalls die Rami sind, von denen die Strahlung ausgeht (Abb. 11). In diesem Zusammenhang mag der Hinweis bedeutungsvoll erscheinen, daß sog. „Hungerstreifen" ebenfalls auf den Autoradiographien abgebildet werden können. Dazu ist zunächst zu betonen, daß nicht jeder „Hungerstreifen" ein wirklicher Hungerstreifen ist, sondern daß es mehrere Faktoren gibt, die die Bildung solcher „Hungerstreifen" hervorrufen können.

In einem speziellen Fall wurde von uns beobachtet, daß eine schmale sog. „Hungerstreifenzone" dadurch zustande kam, daß die Radii der Feder nach dorsal

mit den Rami verklebt waren und so an der proximalen und distalen Begrenzung des Hungerstreifens winzige Trichter bildeten. Die Autoradiographie ergab, unter der Lupe betrachtet, eine Schwärzung nicht der Zwischenräume zwischen den Rami, sondern eine solche der Rami selbst. Diese kann also durch Adhäsion von radioaktiven Exkretstoffen herrühren oder aber auch, was bisher noch nicht erwähnt wurde, auf Grund eines gewissen Druckeffektes beim Aufpressen der Feder mit Hilfe eines Sandsackes auf den Röntgenfilm entstehen, denn diese Hungerstreifen zeigen etwas kräftigere Rami wegen der mit ihnen verklebten Radii. Zur Klärung der möglicherweise auftretenden Fehlerquellen wurden folgende Versuche durchgeführt:

In der ersten Versuchsreihe wurde auf eine Glasplatte ein Röntgenfilm gelegt und darüber eine Schwanzfeder eines unbehandelten Vogels. Dann wurde ein Filterpapier, wie es in der Papierchromatographie Verwendung findet, mit einer radioaktiven $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung getränkt und über die Feder gelegt. Für die Tränkung des Filterpapiers wurden 0,03 cm^3 Lösung/cm^2 verwendet, was einer radioaktiven Strahlung von etwa 0,1 μC für die gleiche Flächeneinheit entsprach. Nach Einschluß in eine lichtdichte Papierhülle wurde die Objektseite mit einem Sandsack beschwert. Der Röntgenfilm, der bereits nach 24 Std entwickelt werden konnte, zeigte eine stärkere Schwärzung zwischen den Rami, während diese heller blieben (Negativ des Films: Abb. 12a). Die Rhachis war kaum geschwärzt. Hungerstreifen, die bei der verwendeten Feder teilweise durch Ausfall der Radii, teilweise aber auch durch die obengenannte trichterartige Verklebung der Radii mit den Rami zustande kamen, konnten dadurch auf der Autoradiographie identifiziert werden, daß die Zwischenräume zwischen die teilweise kahlen Rami die radioaktive Strahlung des darüberliegenden

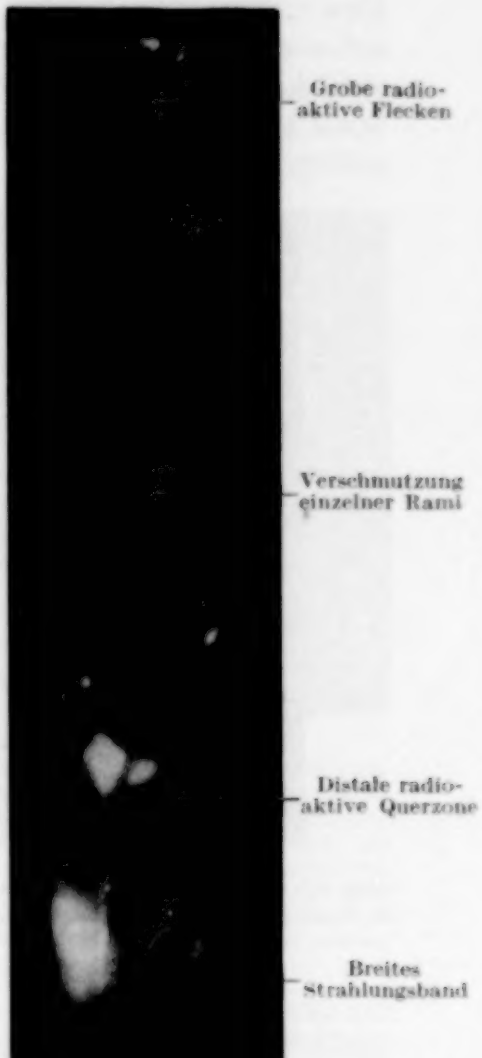


Abb. 11. *Pica pica*. Negativ der Autoradiographie der 4. rechten Steuerfeder einer Elster zur Verdeutlichung einer unabhängig von der Injektion erfolgten Federverunreinigung, die einerseits einzelne Rami selbst betrifft, andererseits aber auch auf grobe Flecken radioaktiven Materials zurückzuführen ist. Nat. Größe

Filterpapieres durchließen und eine stärkere Schwärzung des Röntgenfilmes verursachten.

Die Rhachis war ferner an 3 Stellen vor dem Versuch mit einer Uhu-Klebstofflösung aus Gründen einer gesicherten Aufbewahrung auf eine Kartonpappe geklebt worden. Sie wurde für den Versuch von dem Karton gelöst und interessanterweise waren durch den Verbleib von Uhu-Klebstoffresten rechts und links der Rhachis hier die Strahlen zwischen den Rami stark absorbiert worden, so daß im Gegensatz zu

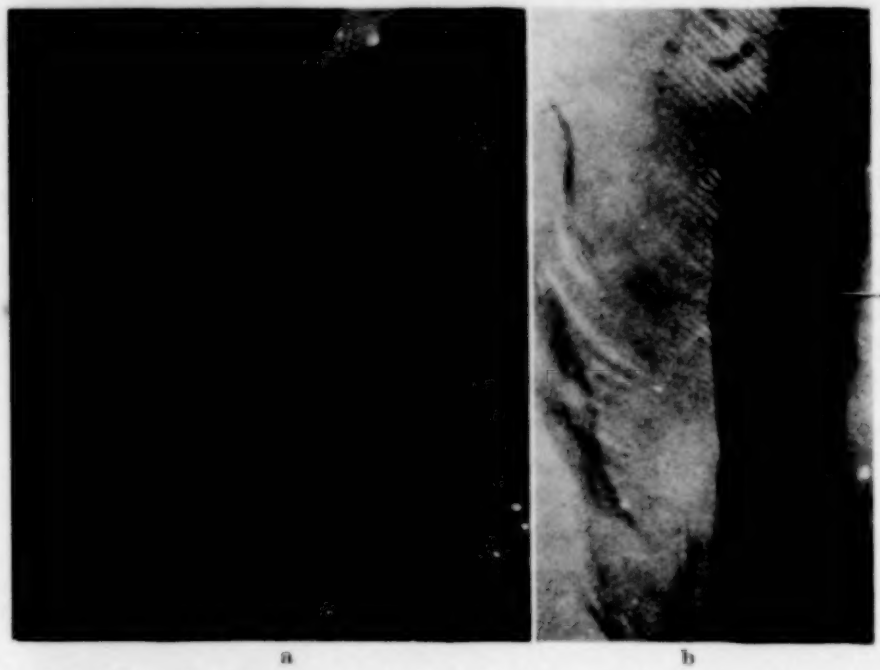


Abb. 12. *Pica pica*. Negativ der vergrößerten Autoradiographieteile mehrerer „Hungerstreifen" (a) und eines Fahnenteiles einer unbehandelten Steuerfeder nach Durchstrahlung mit einem radioaktiv getränkten Filterpapier (b). Vergr. 2,3fach

den übrigen Federteilen an diesen Stellen die Rami auf dem Film dunkler waren als die ihren Zwischenräumen entsprechende Orte (Abb. 12b). Im Gegensatz zu jenen Befunden werden die Rami radioaktiver durch Exkretstoffe oder dergleichen verschmutzer Federn auf den Autoradiographien dunkel dargestellt, und zwar nicht nur an der normalen Federfahne, sondern auch im Bereich der Hungerstreifen. Bei einer starken Strahlung der Hornteile der Feder infolge einer Applikation von radioaktivem Isotop kann bei einem „Hungerstreifen" im Bereich der radioaktiven Querzone andererseits die Beobachtung gemacht werden, daß der Hungerstreifen einfach aus Mangel an radioaktivem Hornmaterial heller erscheint als seine Umgebung. Es kann also ein „Hungerstreifen" auf der Autoradiographie einmal heller, ein anderes Mal dunkler als seine Umgebung abgebildet sein (Abb. 13a und b). Entsteht er durch äußere Verschmutzung infolge von flüssigen Exkretstoffen, so kann

er bei einer trichterartigen Verklebung der Radii mit den Rami eine noch stärkere Schwärzung als seine Umgebung auf dem Röntgenfilm verursachen. Liegt andererseits eine Einlagerung des radioaktiven Isotops in dem den Hungerstreifen umgebenden Bereich der Federfahne vor, wie man ihn beispielsweise durch Injektionsversuche erzielen kann, so kann der Hungerstreifen sich heller auf der Röntgenplatte als seine Umgebung abbilden, wenn er einer Rückbildung der Radioli und Radii seine Entstehung verdankt.

a b

Abb. 13. *Pica pica.* Negativ eines vergrößerten Autoradiographieteiles eines unbehandelten, zum Teil verschmutzten Federanteiles (a) einer Steuerfeder und einer breiten, durch Injektion des radioaktiven Isotopes erzielten Strahlungszone (b) einer Schwanzfeder. Beide mit „Hungerstreifen". In a sind die Hungerstreifen heller als die Umgebung, in b ist der infolge seines bogenförmigen Verlaufs abnorme Hungerstreifen dunkler als seine Umgebung (vgl. Text). Vergr. 2,3fach

Schließlich muß noch erwähnt werden, daß sich auch in der Rinne der ventralen Rhachisseite radioaktives Material ansammeln kann, so daß also bei Autoradiographien an dieser Stelle eine schwarze Strahlungslinie auftreten kann. Man wird sie von Schwärzungen, die durch einen Einbau von Hornmaterial in der Rhachis entstehen, differenzieren müssen.

Vor der Besprechung der Möglichkeit des Auftretens einer Schwärzung des Röntgenfilmes durch den Druckeffekt muß darauf hingewiesen werden, daß bei der wachsenden Feder auch durch Coriummaterial, vor allem aber durch Hornmaterial zwischen den radiogenen Leisten, welches zum Pudern der Jungfedern Verwendung findet, eine gewissermaßen natürliche Verunreinigung auftreten kann. Dabei wird während der Applikationszeit gebildetes Puderhorn sehr wahrscheinlich auch radioaktiv sein, und man wird bei radioaktiv markierten Federn die „Verschmutzung" durch das Puderhorn von einer äußeren Verschmutzung

und möglicherweise auch von der Wirkung des Druckeffektes differenzieren müssen.

Betreffs des Druckeffektes ist festzustellen, daß dieser nicht durch statischen, sondern durch gleitenden Druck entsteht, wenn also beispielsweise Papierkanten oder ähnliches in der Dunkelkammer beim Auspacken über die Filmschicht geführt werden. Es ist an und für sich unmöglich, statischen Druck ohne jeden gleitenden Druck auf die Emulsion wirken zu lassen (BOYD 1955 und MOOR 1951), so daß also auch durchaus bei der aufgelegten Feder die Frage diskutiert werden kann, ob nicht die Rhachis, insbesondere aber die Rami durch das Aufpressen auf den Röntgenfilm eine Schwärzung der Emulsion infolge eines von ihnen ausgehenden Druckeffektes verursachen.

Ein solcher läßt sich in allen den Fällen ausschließen, in denen der isotopfreie Teil der Feder nicht auf dem Röntgenfilm abgebildet wurde. Andererseits aber wäre es durchaus denkbar, daß bei einer auf den Röntgenfilm aufgelegten, leicht angepreßten Feder durch Erschütterungen, wie sie beispielsweise in jeder Stadt durch den Straßenverkehr auftreten können, Druckwirkungen von den Rami oder der Rhachis ausgehen können. Gerade bei „Hungerstreifen", die durch Verklebung der Radii mit den Rami entstehen, wäre eine Druckwirkung allein schon wegen des gegenüber der Umgebung veränderten Profils derselben durchaus denkbar.

Zur Klärung dieser Frage wurde folgender Versuch unternommen: Eine Feder eines nicht mit radioaktiven Isotopen behandelten Versuchstieres wurde auf einen Röntgenfilm aufgelegt. Nach 20 Tagen wurde der Film entwickelt, wobei die Feder den Erschütterungen, wie sie in jeder verkehrsreichen Stadt entstehen, ausgesetzt war. Es trat keine Schwärzung auf. Der Pressure-Effekt ist also so gering, daß er aus unseren Versuchen auszuschließen ist.

c) Bei Melopsittacus undulatus

In Erweiterung unserer Versuche an Weichfressern (*Phoenicurus ochruros*) sowie an Allesfressern (*Pica pica*) interessierte uns die Frage, ob bei Körnerfressern ähnliche Befunde feststellbar sind. Als Versuchstiere wählten wir daher Wellensittiche (*Melopsittacus undulatus* GOULD), einmal wegen des verhältnismäßig leicht konstant zu haltenden Futters, zum anderen auch wegen der leichten Aufzucht der Jungvögel, die von den Elterntieren bis zur selbständigen Nahrungsaufnahme mit dem Inhalt des Kropfes gefüttert werden. Zum Vergleich wurde später das Federwachstum von *Pyrrhula pyrrhula*, eines anderen Körnerfressers, herangezogen.

Den Vögeln wurde zunächst eine sterile, isotonische und radioaktive $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung rechts und links der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert. Die Strahlungsdosis entsprach 0,8 mC/Vogel, war also ebenso hoch wie bei den Versuchen mit den Elstern. Zum Unterschied

von diesen fiel aber auf, daß bei den Wellensittichen der Kot bedeutend länger nach der Applikation radioaktiv blieb. Bei einem bei Versuchsbeginn 19 Tage alten Versuchsvogel zeigte der Kot bzw. die anhaftenden Exkretstoffe erst nach 45 Tagen keine meßbare Strahlung mehr. Es hatte den Anschein, als ob die Strahlungsintensität der Ausscheidungsstoffe etwas später als bei den jungen Elstern ihren Maximalwert erreichte.

Um genaue Unterlagen für eine zeitgerechte Applikation des radioaktiven Isotopes zu erhalten, wurde sowohl bei Handschwingen als auch bei Schwanzfedern das Längenwachstum kontrolliert. Es ist nämlich durchaus nicht gleichgültig, ob der Zeitpunkt für die Injektion der radioaktiven Isotoplösung zu Beginn oder in der Mitte des Federwachstums

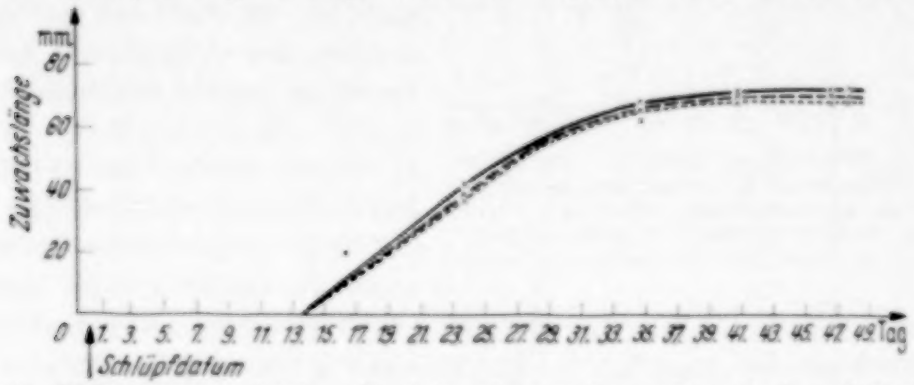


Abb. 14. *Melopsittacus undulatus.* Wachstumskurven der rechten 8., 9. und 10. Handschwingen eines Jungvogels

erfolgt, denn in letzterem Falle käme man während der Versuchsperiode in eine Phase des Längenwachstums hinein, die nicht mehr direkt proportional zur Zeit verläuft. Abb. 14 gibt die Wachstumskurven für die 8., 9. und 10. Handschwinge eines Jungvogels wieder. Das Wachstum begann etwa 13 Tage nach dem Schlüpfen des Vogels. Aus den Kurvenbildern ist ersichtlich, daß die Federn bis etwa zum 13. Tage nach ihrem Erscheinen ein schnelles, gleichmäßiges Wachstum zeigen, das sich dann in den folgenden etwa 13 Tagen allmählich verlangsamt, um schließlich ganz aufzuhören.

Bei unseren Untersuchungen über das Federwachstum, über die in einer besonderen Arbeit berichtet werden soll, fiel uns auf, daß der tägliche Zuwachs sich bei verschiedenen Vögeln im gleichen Versuchskäfig entsprach. Abb. 15 gibt einen solchen entsprechenden Kurvenverlauf des täglichen Zuwachses zweier Vögel für die 9. rechte Handschwinge wieder. Nicht immer entsprechen sich die Kurven des täglichen Längenzuwachses so deutlich wie in der Abb. 15. Daß aber auch für den Längenzuwachs der Schwanzfedern gleicher Käfigvögel ein ähnliches Verhalten festgestellt werden kann, zeigt Abb. 16. Hier ist in den ersten 9 Tagen, also vom 6. bis zum 15. Meßtage, ein entsprechender Verlauf der Kurven bei 3 Vögeln deutlich erkennbar, wobei noch

hinzugefügt werden muß, daß von dem einen nicht die erste, sondern die zweite Schwanzfeder zum Vergleich herangezogen worden ist.

Ein bei den Injektionsversuchen mit radioaktiven Isotopen an Vögeln immer wieder auftretendes Problem ist darin gegeben zu erfahren, wo die Aufnahme des Isotops in der Feder erfolgt. Zur Erläuterung der dabei zu berücksichtigenden Faktoren mag zunächst ein anderer Versuch geschildert werden. Ein junger Wellensittich, der am 30. 5. 59 schlüpfte, erhielt am 18. Juni 0,2 mC einer isotonischen Sulfatlösung in die Brustmuskulatur beiderseits der Crista sterni injiziert. Nach 11 Tagen wurde die 9. linke Handschwinge entfernt und unter dem Geiger-Müller-Zählrohr unter Verwendung eines Metallfensters von 6 × 11 mm aus gewertet. Die nebenstehende Tabelle gibt entsprechend der zugefügten Umrißzeichnung mit den Federzonen die auf das Applikationsdatum umgerechneten Strahlungswerte für die Dorsal- und Ventralseite der Feder wieder (Abb. 17). Aus den Werten ist also eine in der 5. Meßzone beginnende Strahlungserhöhung erkennbar, die in der 7. Meßzone ihren Maximalwert erhält. Es besteht kein wesentlicher Unterschied in der Strahlungsintensität zwischen der Dorsal- und Ventralseite. Da der Flügel dieses Vogels nicht eingehüllt war und daher mit einer Verunreinigung von außen her gerechnet werden konnte, wurde die Feder in Aqua dest. bei einer Temperatur von 80° C 2 min lang gebadet, getrocknet und erneut unter dem Geiger-Müller-Zählrohr gemessen. Die Werte für die Dorsalseite sind in der Abbildung beigefügt. Ein wesentlicher Unterschied zu den Meßwerten der ungebadeten

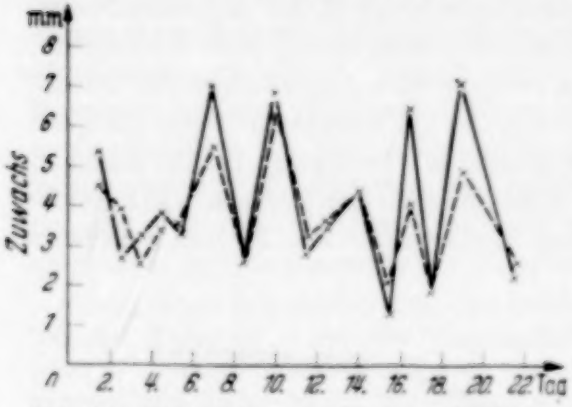


Abb. 15. *Melopsittacus undulatus*. Täglicher Längenzuwachs der 9. rechten Handschwinge zweier im gleichen Käfig gehaltener Vögel nach der Mauser. Ordinate: Längenzuwachs in Millimetern. Abszisse: Versuchsdauer in Tagen

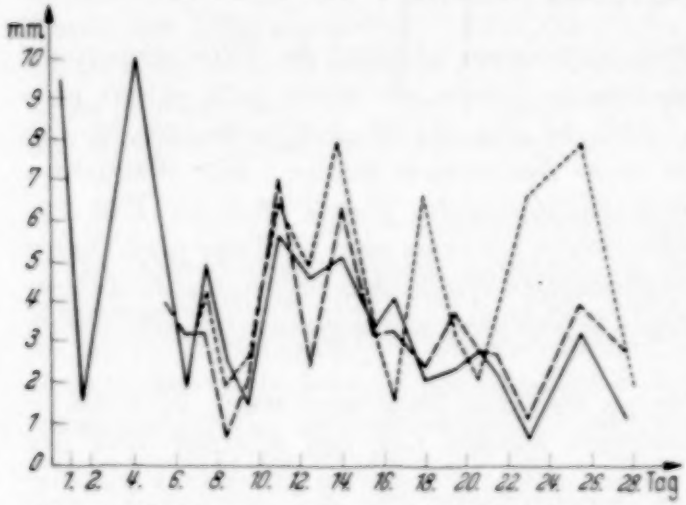
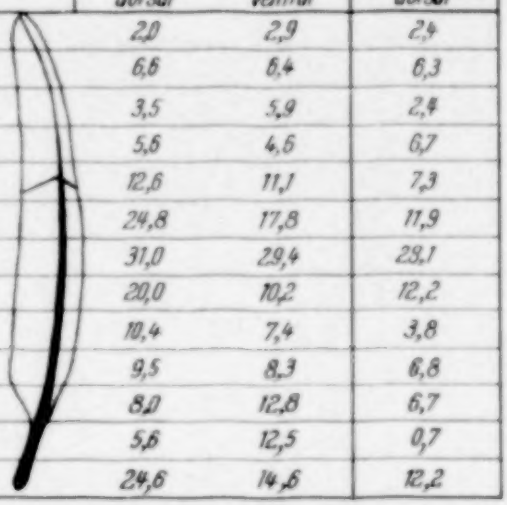


Abb. 16. *Melopsittacus undulatus*. Der tägliche Längenzuwachs der 1. bzw. 2. Schwanzfeder nach der Mauserung bei 3 verschiedenen Vögeln des gleichen Käfigs. Ordinate: Längenzuwachs. Abszisse: Versuchszeit in Tagen

Feder ist nicht festzustellen, d. h. daß die Verschmutzung der Feder geringfügig war. Die Autoradiographie der Ventralseite der gemessenen Feder bestätigte dies (Abb. 18). Hier ist außerdem oberhalb des Nabels (Umbilicus superior) die ventrale Rinne der Federrhachis durch eine dunkle Linie auf dem Negativ der Autoradiographie erkennbar. Der Nabel selbst wird durch einen hellen Fleck deutlich. Eine weitere unter ihm befindliche kleine Aufhellung stellt eine Hornkuppe in der Spule dar. Die Spule selbst ist in ihrem basalen Teil durch Blut und Coriumanteile sehr stark radioaktiv.



	ungewaschen		gewaschen
	dorsal	ventral	dorsal
1	2,0	2,9	2,4
2	6,6	6,4	6,3
3	3,5	5,9	2,4
4	5,6	4,6	6,7
5	12,6	11,1	7,3
6	24,8	17,8	11,9
7	31,0	29,4	28,1
8	20,0	10,2	12,2
9	10,4	7,4	3,8
10	9,5	8,3	6,8
11	8,0	12,8	6,7
12	5,6	12,5	0,7
13	24,6	14,6	12,2

Abb. 17. *Melopsittacus undulatus.* Umrißzeichnung der linken 9. Handschwinge mit den eingetragenen Meßabschnitten und den umgerechneten Strahlungswerten für die Dorsal- und Ventralseite der ungewaschenen Feder sowie für die Dorsalseite nach dem Waschen

Die Feder hatte zum Zeitpunkt der Applikation eine über die Haut hinausragende Länge von 40,8 mm. Die Entfernung des obersten Randes der bandartigen radioaktiven Querzone (Abb. 18) von der Spitze betrug dagegen nur 28 mm, was zu der ursprünglichen Länge eine Differenz von 12,8 mm ausmacht. Da nach unseren Beobachtungen eine so hohe Abnutzung von 12,8 mm innerhalb von 11 Tagen nicht in Frage kommen kann, muß gefolgert werden, daß das radioaktive Isotop am Tage der Applikation über die Hautoberfläche hinaus in das Corium der Feder hineingewandert ist. Hier kann es entweder als filmartiger Belag der ventralen Seite der Federfahnen, der Federrhachis, aber auch der Innenauskleidung der Federseele anhaften. Da aber weiter kein Intensitätsunterschied der radioaktiven Strahlung nachweisbar war, muß auch angenommen werden, daß das Isotop direkt in die Feder eingewandert ist.

Auffällig ist an dem Negativ der Autoradiographie der 9. linken Handschwinge, daß unterhalb der eben erwähnten bandartigen radioaktiven Querzone ein breiteres Strahlungsband sich befindet. Der Beginn dieses Strahlungsbandes ist von dem unteren Rand der darüberliegenden radioaktiven Querzone durch einen etwa 0,5 mm breiten, kaum strahlenden Gürtel getrennt. Jenes würde, da es also von der Spitze etwa 35 mm entfernt ist und eine Breite von etwa 7 mm besitzt, bei der ursprünglichen Länge der Feder von 40,8 mm am Applikations-

tag möglicherweise sein Ursprungsgebiet zum Teil unter, zum Teil aber auch über der Hautoberfläche gehabt haben.

Bei diesen Berechnungen ist aber außerdem in Betracht zu ziehen, daß nach LILLIE und JUHN (1932) 90% des Längenwachstums auf Zelldifferenzierung und nur 10% auf Plasmadifferenzierung zurückzuführen ist. Trotzdem könnte allein auf Grund des histologischen Aufbaus der wachsenden Vogelfeder angenommen werden, daß in Anlehnung an die Versuche von BERN, HARKNESS und BLAIR (1955) an Mäusen, jedoch bei der Feder mehr von innen her, das radioaktive Isotop nicht nur über die basale Bildungszone, sondern auch noch oberhalb von dieser über das Corium vor der abgeschlossenen Verhornung der Zellen von diesen aufgenommen werden kann.

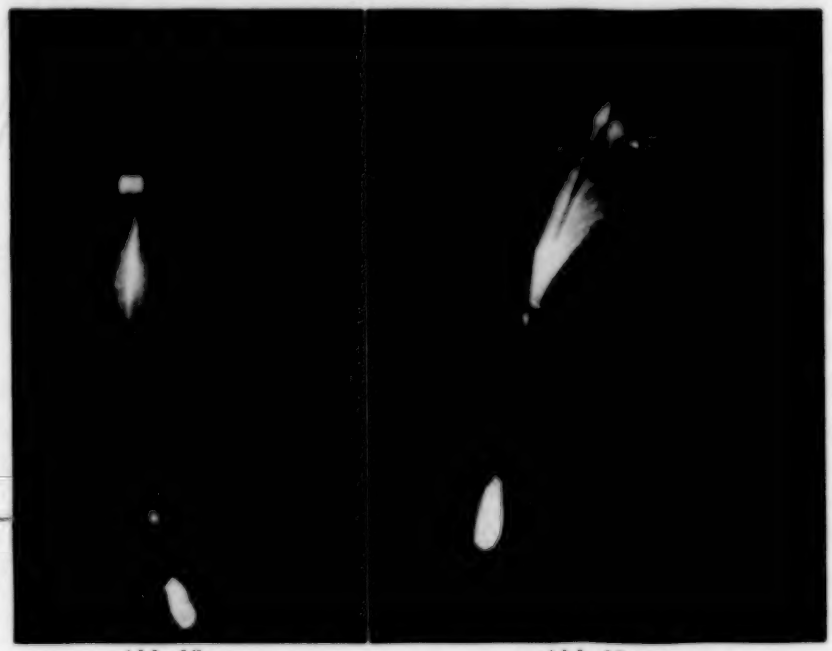


Abb. 18 Abb. 19

Abb. 18. *Melopsittacus undulatus*. Negativ der Autoradiographie der Ventralseite der 9. linken Handschwinge nach dem Waschen (vgl. Text). Nat. Größe

Abb. 19. *Melopsittacus undulatus*. Negativ der Autoradiographie der Dorsalseite der 9. rechten Handschwinge eines Jungvogels. Der Flügel war in einer Kunststoffhülle eingehüllt. Applikationsmenge: 0,4 mC. Nat. Größe

Die Feder hatte am Tage ihrer Entfernung eine Gesamtlänge von 76,4 mm. Die entsprechende Feder der Gegenseite steckte an ihrer Basis mit 7,8 mm, bei einer Gesamtlänge von 76,8 mm, im Gewebe. Sie war also nur um 0,4 mm länger. Bringt man den Gewebeanteil von 7,8 mm und die ursprüngliche Länge von 40,8 mm der abgebildeten Feder in Abzug von der endgültigen Federlänge von 76,4 mm, so erhält man einen Wert von 27,8 mm, den Betrag also, um den die Feder gewachsen ist. Das ergibt einen Wert von 2,53 mm pro Tag. Bei der Autoradiographie der entsprechenden 9. Handschwinge der Gegenseite des gleichen Vogels konnte ein Abstand der radioaktiven Querzonen von 2,48 mm gemessen werden. Abb. 19 stellt das Negativ der entsprechenden Hand-

schwinge der rechten Seite in Dorsalansicht dar. Da diese Feder, wie überhaupt der ganze Flügel, in einen Kunststoffbeutel während der Versuchsperiode eingehüllt blieb, ist ihre Fahne nicht so stark entfaltet wie ihre entsprechende auf der anderen Seite (Abb. 18). Immerhin ist auch hier im distalen Bezirk des Strahlungsteiles eine aufgehellte Querzone zu erkennen, die nach proximal von einem dunklen Gürtel bis zu einer erneuten breiten Aufhellung gefolgt wird. Sie entspricht insofern auch derjenigen der Gegenseite, nur ist die distale Querzone verwaschen und von einem etwa 2 mm breiten, wenn auch weniger radioaktiven Strahlungsteil überragt. Die proximale Aufhellung an der Basis der sich entfaltenden Federfahne rührt von einer intensiven Strahlung der hier gebündelten Rami her, während die basale Strahlungszone durch Blut und Coriumanteile hervorgerufen wird.

a b

Abb. 20. *Melopsittacus undulatus*. Negative der Autoradiographien der Dorsalseiten einer 10. rechten (a) und linken (b) Handschwinge zweier verschiedener Vögel, deren Flügel beide eingehüllt waren. Applikationsmenge 0,4 mC. Nat. Größe

Abb. 20 gibt die Negative der Autoradiographien der Dorsalseiten einer rechten und einer linken Handschwinge zweier verschiedener Vögel wieder, deren beide Flügel eingehüllt waren. Ihre Längen verhielten sich wie 61,5 zu 67,5, wobei die größere die rechte Handschwinge war. Vergleicht man damit das Negativ der Autoradiographie der Dorsalseite der rechten 9. Handschwinge des einen Vogels (Abb. 19), so kann man folgendes feststellen: Alle 3 Federn waren im vollen Besitz ihrer Federscheiden, jedoch ist eine unterschiedliche Strahlungsintensität an der Basis zu beobachten. Die linke 10. Handschwinge des einen Vogels strahlt an der Basis stärker als die rechte 10. des anderen und diese wieder stärker als die rechte 9. desselben Vogels, die eine Gesamtlänge von 76,8 mm besaß. Vergleicht man zu den gemessenen Längenwerten die endgültigen Längenwerte der entsprechenden Federn der jeweils anderen Seiten dieser Vögel, so kann man feststellen, daß die 10. linke Handschwinge des einen Vogels noch etwa 15 mm, die 10. rechte Handschwinge des anderen noch etwa 9 mm und die 9. rechte desselben nur noch etwa 6 mm zu wachsen hatte. Möglicherweise zieht sich also das radioaktive

Isotop wie das Corium mit dem abschließenden Wachstum der Federbasis aus dieser zurück.

Interessanterweise konnte bei den nicht eingehüllten Handschwingen in sehr schöner Weise eine rhythmische Ablagerung des radioaktiven Isotops vorgefunden werden (Abb. 21). Eine Abhängigkeit der Federlängen zu den distalen Grenzen der radioaktiven Querzonen ist auch beim Wellensittich insofern gegeben, als bei den längsten Federn die Abstände der distalen radioaktiven Querzone auch am weitesten von

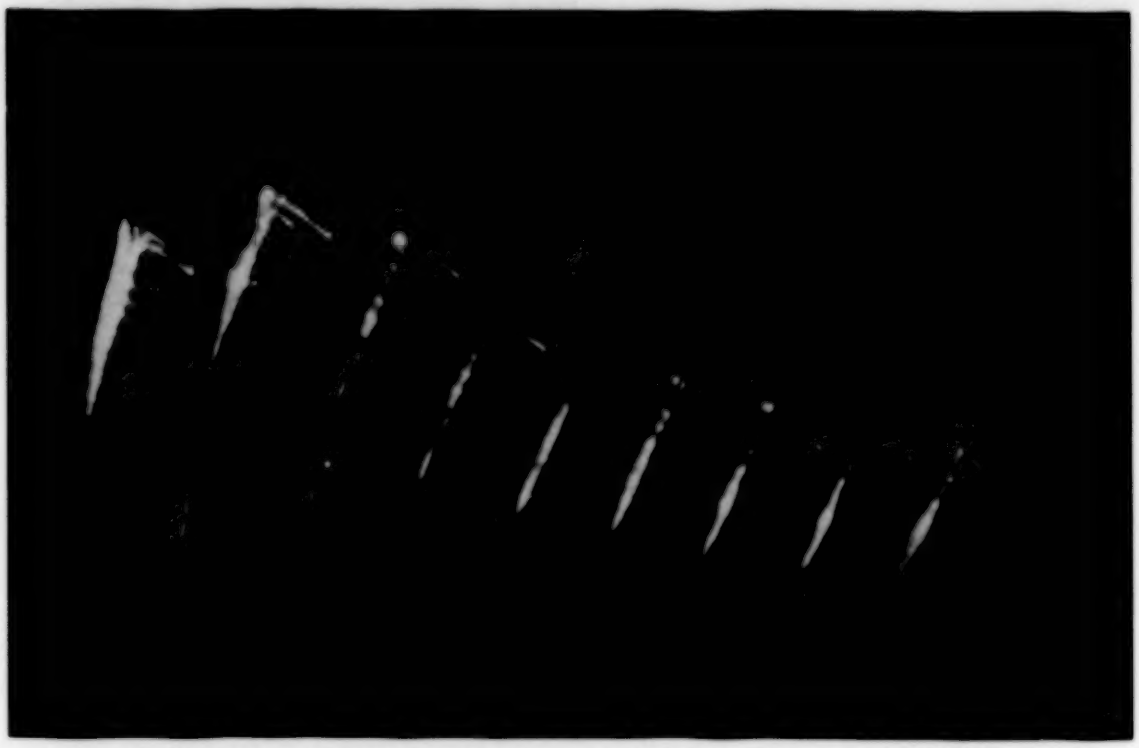


Abb. 21. *Melopsittacus undulatus*. Negativ der Autoradiographie von 9 Handschwingen eines rechten Flügels von der Dorsalseite. Der Flügel war nicht eingehüllt. Nat. Größe

der Federbasis entfernt sind. Eine Übersicht über diese Beziehung gibt das beigefügte Diagramm (Abb. 22). Bemerkenswert ist weiter, daß auch bei diesen Handschwingen, insbesondere bei der 2.—6. deutlicher hervortretend, zur Federbasis hin noch einmal eine Aufhellung, d. h. eine Zone höherer Strahlungsintensität, in einem Abstand von etwa 10 mm von der distalen radioaktiven Querzone beobachtet werden kann. Vielleicht schließt sich daran noch eine weitere, die sich von der 7. Handschwinge nach proximal abzusondern beginnt. Es scheint, als ob dem kürzeren Ablagerungsrhythmus des Isotops ein längerer mit breiteren Querbändern radioaktiver Strahlung zugeordnet werden könnte. Der gleiche Befund konnte auch an den Handschwingen der Gegenseite festgestellt werden, bei denen, vielleicht als Folge der Einhüllung in

Kunststoffbeutel, der kürzere Ablagerungsrhythmus weitgehend unterdrückt war.

Eine Auszählung der 10. rechten Handschwinge unter der Lupe ergab 25 radioaktive Querzonen, die in ihrem durchschnittlichen Abstand

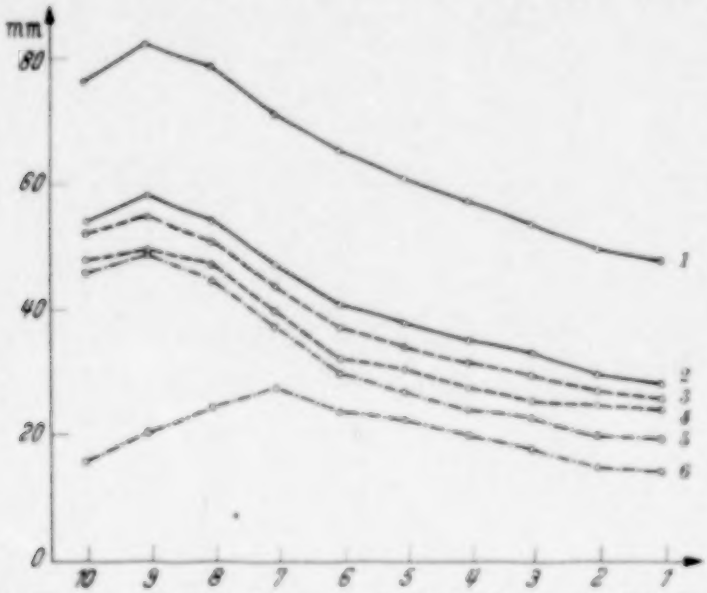


Abb. 22. *Melopsittacus undulatus.* Diagramm der Federlängen und Abstände der distalen Querzonen radioaktiver Strahlung und der breiten Strahlungsbänder der rechten nicht eingehüllten Handschwingen eines Jungvogels. Applikationsmenge 0,4 mC einer isotonischen radioaktiven Sulfatlösung in die Brustmuskulatur. Versuchsdauer 25 Tage. *1* Gesamtfederlänge; *2* distale radioaktive Querzone; *3* distale Grenze der proximalen dunklen Zone und ihre proximale Grenze *4*; *5, 6* Strahlungsmaxima zweier breiter, vor allem auf der Rhachis sich abzeichnender Querbänder. (Vgl. auch Abb. 21)

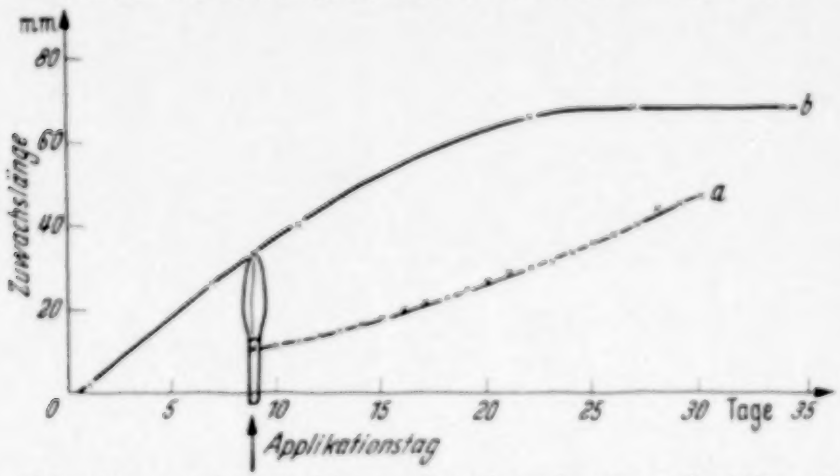


Abb. 23. *Melopsittacus undulatus.* Die aus den Abständen der radioaktiven Querzonen ermittelte Kurve des Federwachstums (*a*) verglichen mit der Kurve der natürlichen Verlängerung der Feder (*b*)

1,8 mm entfernt waren, aber im einzelnen abstandsmäßig etwas variierten. Fügt man die gemessenen Einzelwerte aneinander, so ergibt sich eine Zuwachskurve, die mit der natürlichen, gemessenen Verlängerung der Feder in Zusammenhang steht (Abb. 23).

Für die Handschwingen wurde an den radioaktiven Querzonen ein Winkel von 79,2° für die breite Innenfahne und ein Winkel von 89,3° für die schmale

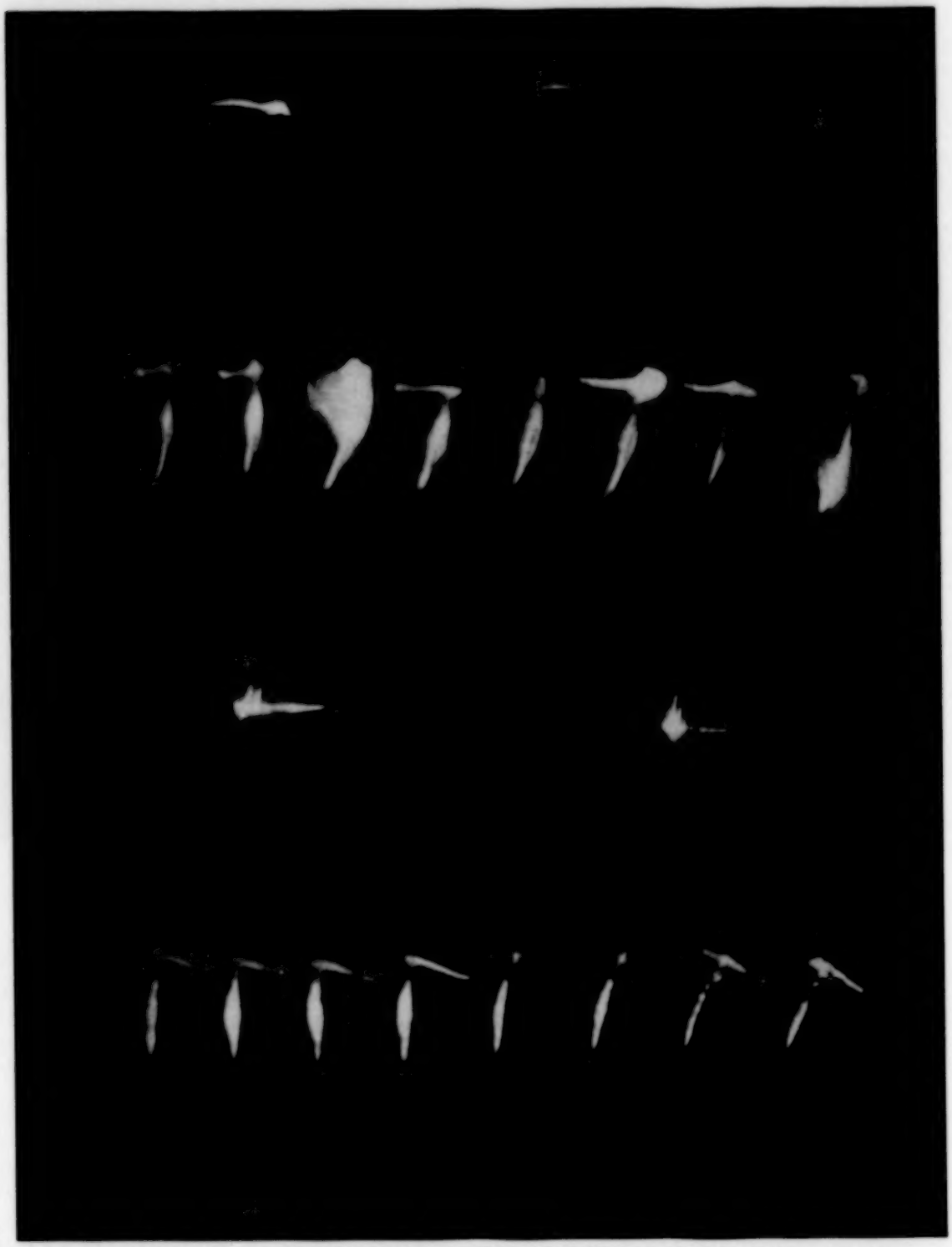


Abb. 24

Abb. 25

Abb. 24. *Melopsittacus undulatus.* Negativ der Autoradiographie der linken in einen Kunststoffbeutel eingehüllten Armschwingen des gleichen Vogels wie Abb. 21. Nat. Größe

Abb. 25. *Melopsittacus undulatus.* Negativ der Autoradiographie der rechten nicht eingehüllten Armschwingen des gleichen Jungvogels wie Abb. 24. Nat. Größe

Außenfahne bestimmt. Für die natürlichen Zuwachsstreifen ergab sich der an der breiten Fahne gemessene Winkel von 77,8°.

Die Armschwingen zeigten den gleichen Unterschied in bezug auf die eingehüllte, hier linke, und die nicht eingehüllte rechte Flügelseite. Abb. 24 gibt das Negativ der Autoradiographie der linken Armschwingen von links unten beginnend wieder. Wie bei den Handschwingen ist auch hier eine schmale radioaktive Querzone zu erkennen, die proximalwärts von mindestens einem, besonders an der Rhachis bemerkbaren, helleren Strahlungsgürtel gefolgt wird. Die Spulen sind kaum noch radioaktiv.

Die Armschwingen der rechten, nicht eingehüllten Seite ergaben ein Autoradiogramm, dessen Negativ die Abb. 25 zeigt. Abgesehen von der schmalen, distalen, stärker strahlenden radioaktiven Querzone war auch hier insbesondere am Schaft ein breiteres, stärker radioaktives Gebiet proximalwärts zu erkennen. Bezeichnenderweise aber kam vielfach ein deutlicher Rhythmus der Ablagerung des radioaktiven Isotops zur Anschauung (Abb. 25). Aus diesen Gründen ist eine Armschwinge noch einmal vergrößert in Abb. 26 wiedergegeben. Bei der Betrachtung des Röntgenfilmes der Abb. 25 fiel auf, daß proximal von der distalen radioaktiven Querzone und vor Beginn des breiten, besonders am Schaft hervortretenden Strahlungsgebietes eine helle Zone zwischengeschaltet war, die im Negativ der Abb. 25 dunkel erscheint. Sie kommt leider in der Reproduktion nicht gut zum Ausdruck. Es wurde

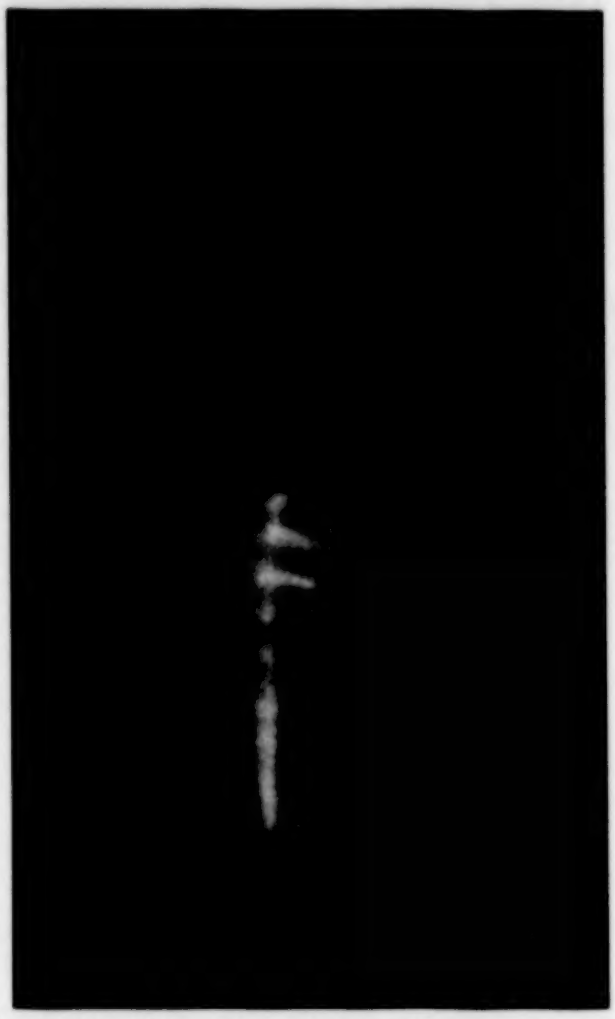


Abb. 26. *Melopsittacus undulatus*. Vergrößerung des Negativs einer Autoradiographie einer rechten nicht eingehüllten Armschwinge des gleichen Wellensittichs wie Abb. 25. Man beachte die rhythmische Ablagerung des radioaktiven Isotopes, das stärkere Strahlungsgebiet an der Basis des Schaftes und die Winkelbildung der radioaktiven Querzonen zum proximalen Schaftteil hin. Vergr. 3,4fach

der Abstand dieser strahlungsarmen Zone von der distalen strahlungsreichen Querzone gemessen und die Entfernung der besonders strahlungsarmen Querbänder von der distalen radioaktiven Querzone in Form eines Diagrammes mit den Federlängen zusammen aufgezeichnet (Abb. 27). Es ergibt sich eigenartigerweise über die Reihenfolge von 10 Armschwingen ein schwingungsartiger Verlauf der Abstandswerte. Die dunkle Zone konnte auch im Negativ des Autoradiogramms der Handschwingen weiter verfolgt werden. Der Winkel der radioaktiven Querzone mit dem proximalen Rhachisteil wurde auf der breiten Innenfahne mit 80,6° bestimmt, ein Wert, der gut mit den anderen oben angegebenen Werten übereinstimmt.

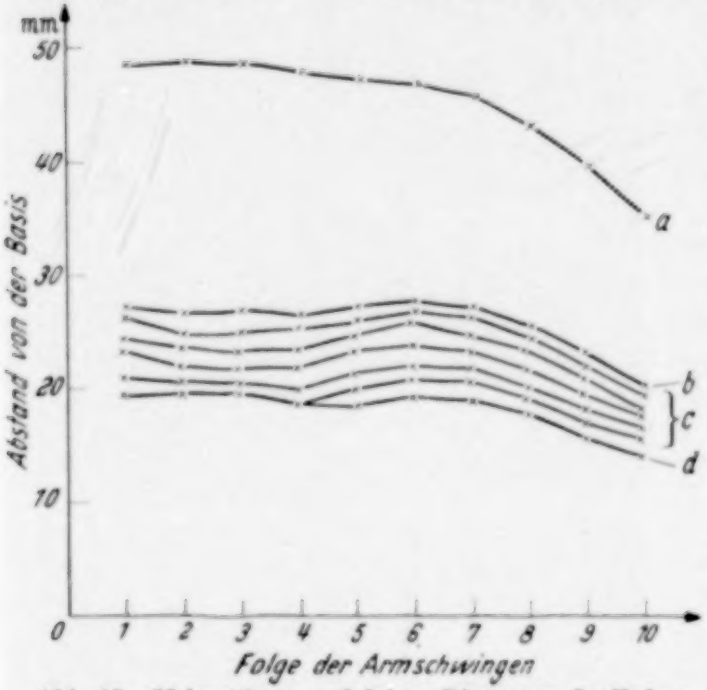


Abb. 27. *Melopsittacus undulatus.* Diagramm der Federlängen (*a*) und Abstände der distalen Querzonen radioaktiver Strahlung (*b*) sowie der Strahlungsstreifen der strahlungsarmen Zone (*c*) und der proximalen breiten Strahlungsbänder (*d*) der rechten nicht eingehüllten Armschwingen eines Jungvogels. Applikationsmenge 0,4 mC Sulfat in isotonischer Lösung. Versuchsdauer 25 Tage

Die Schwanzfedern zeigten ebenfalls eine rhythmische Ablagerung des radioaktiven Schwefels. Eine Umhüllung der Schwanzfedern mit einem Kunststoffbeutel war nicht möglich, da sich die Tiere in kurzer Zeit davon befreiten. Abb. 28 stellt das Negativ des Autoradiogramms der rechten und linken Schwanzfedern eines jungen Wellensittichs dar, dem ebenfalls 0,2 mC einer isotonischen radioaktiven Sulfatlösung beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert wurden.

Die Breite der radioaktiven Querzonen wurde im oberen Teil der ersten Schwanzfeder mit einem durchschnittlichen Wert von 1,5 mm bestimmt. Rechnet man dazu den dunklen Querzonenteil, so kommt man auf eine durchschnittliche Breite von 2,5—2,9 mm; dies entspricht etwa der Breite der natürlichen Zuwachsstreifen in der oberen Federhälfte. Für ihren dunklen Teil wurden 1,0—1,8 mm gemessen. Die Gesamtbreite des natürlichen Zuwachsstreifens, also einschließlich des hellen Teiles, lag zwischen 3,0 und 4,0 mm. Ebenso konnte auch bezüglich des Winkels sowohl der radioaktiven Querzonen als auch der natürlichen Zuwachsstreifen mit dem proximalen Rhachisteil nur geringe Schwankungen festgestellt werden.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß auch in den Schwanzfedern die Abstände der rhythmischen Ablagerungen des radioaktiven

Abb. 28. *Melopsittacus undulatus*. Negativ der Autoradiographie der linken und rechten Schwanzfedern eines Jungvogels, dem 0,2 mC einer sterilen isotonischen ^{35}S-Sulfatlösung jederseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert wurden. Man beachte die rhythmische Ablagerung des radioaktiven Isotopes, die nahezu senkrechte Lage der radioaktiven Querzone zum proximalen Schaftteil sowie die Aufhellung des Schaftes in etwa 1,5 cm Entfernung von der distalen radioaktiven Querzone. Die an den Spitzen der Federn auftretende Strahlung ist auf Verunreinigung durch Kot und Exkretstoffe zurückzuführen. Versuchsdauer 25 Tage

Schwefels in etwa den Breiten der natürlichen Zuwachsstreifen entsprechen.

Der Abstand der distalen radioaktiven Querzone von der Federspitze gibt Veranlassung zur Beurteilung des Federwachstums und soll hier für die erste rechte Schwanzfeder durchgeführt werden.

Er beträgt 22,3 mm. Am Applikationstage ragte die Feder 33,0 mm aus dem Gewebe heraus, das bedeutet, daß auch hier wieder das radioaktive Isotop in den noch von der Federscheide umgebenen Feder- bzw. Coriumanteilen distal gewandert sein muß, und zwar um 10,7 mm. Die Gesamtlänge der Feder betrug bei Ende des

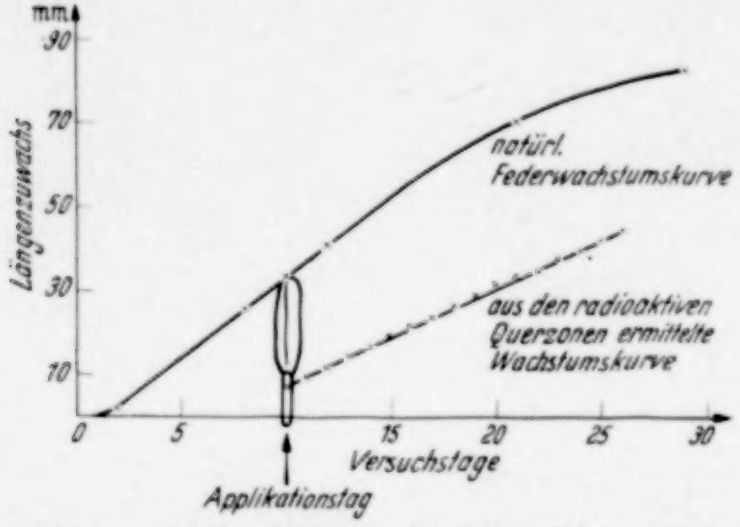


Abb. 29. *Melopsittacus undulatus*. Das Längenwachstum der 1. rechten Schwanzfeder eines Jungvogels in Abhängigkeit von der Zeit und dem Vergleich zu der aus den radioaktiven Querzonen ermittelten Längenzunahme. Der Pfeil bedeutet das Applikationsdatum. Versuchsdauer 29 Tage

Versuches, d. h. nach 29 Tagen, 92 mm. Ihre Scheidenlänge maß 11 mm. Die Feder ragte aus dem Gewebe der Haut 86 mm heraus, das bedeutet, daß von der Federbasis 6,0 mm in der Haut verblieben. Die Feder war noch nicht ausgewachsen. Subtrahiert man von der Gesamtlänge der Feder die Entfernung der distalen radioaktiven Querzone von der Federspitze, so erhält man einen Wert von 69,7 mm. Dividiert man diesen Wert durch die Zahl der Versuchstage vom Applikationstag bis zum Entfernen der Feder, also durch 19, so erhält man einen theoretischen Zuwachs von 3,7 mm/Tag. Dieser Wert aber wird insofern einzuschränken sein, als bei der wachsenden Feder der basale Teil sicher noch nicht in seiner ganzen Länge verhornt ist, und möglicherweise ein Teil des radioaktiven Isotops in dem von der Federscheide umgebenen Teil distal gewandert sein mag. In den Tagen der Applikation wurde jedenfalls ein Zuwachswert von 3,5 mm für die untersuchte Feder gemessen. Einen Aufschluß über das Längenwachstum der Feder geben die Meßwerte der Schwanzfeder während der Versuchsdauer.

Abb. 29 stellt die aus diesen Meßwerten erhaltene natürliche Zuwachskurve im Vergleich zu dem aus den radioaktiven Querzonen ermittelten Zuwachs dar. Abb. 30 zeigt ein entsprechendes Diagramm der Schwanzfedern eines Jungvogels. Es veranschaulicht die von der Länge der Federn in bestimmter Weise abhängige Lage der distalen

radioaktiven Querzone. Ebenso ist der Ort der in der Abb. 28 deutlich werdenden Aufhellung der Rhachis etwa 15 mm unterhalb der distalen radioaktiven Querzone ebenfalls in dieses Diagramm aufgenommen worden.

Ein anderer Wellensittich, der bereits im Alter von 21 Tagen eine Injektion von 0,4 mC in die Brustmuskulatur erhalten hatte und dessen Kot bzw. Exkretstoffe nicht mehr radioaktiv waren, wurde für einen weiteren Versuch herangezogen. Im Alter von 66 Tagen erhielt er, nachdem seine Schwung- und Schwanzfedern nach dem ersten Entfernen wieder zu wachsen begannen, 1 mC in gleicher Weise wie vorher in die Brustmuskulatur injiziert. Seine Flügel wurden beide in Kunststofftaschen eingehüllt. Nach 17 Tagen wurden die Federn des Vogels zum zweiten Mal entfernt. Da sie sich während der Versuchsdauer in Kunststofftaschen befanden, mußten insbesondere von den Handschwingen die diese weit distalwärts umgebenden Scheiden abpräpariert und die Federfahne freigelegt werden. Die Federn wurden darauf in einer Alkohol/Aceton/Äther-Lösung gebadet und anschließend in destilliertem Wasser gewaschen, eine Methode, die man sonst zur Entfernung des fetthaltigen Bürzeldrüsensekretes vor dem Hydrolysieren benutzt.

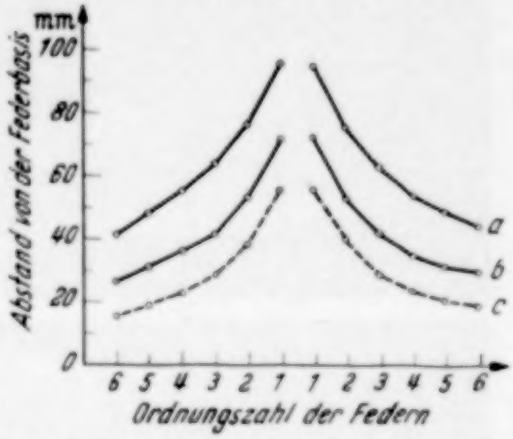


Abb. 30. *Melopsittacus undulatus.* Diagramm der Schwanzfedern eines Jungvogels mit den Federlängen (*a*), der Lage der distalen radioaktiven Querzone (*b*) und der Lage der aufgehellten Rhachiszone (*c*). Dem Vogel wurden 0,4 mC in die Brustmuskulatur injiziert. Versuchsdauer 25 Tage

Auf dem Negativ des Autoradiogrammes der linken Handschwingen (Abb. 31), die hier in ihrer Reihenfolge von 2—10 ausnahmsweise von links nach rechts angeordnet sind, ist von der 9. und 10. Handschwinge nur der basale Teil der Federspule als stark strahlendes Pünktchen erkennbar. Diese punktförmige Strahlung hat unseres Erachtens ihre Ursache in den anhaftenden Corium- bzw. Blutteilen. Bei den übrigen Handschwingen sieht man nur die distale Strahlungszone als schmales, helles Querband, wie es insbesondere bei der 4., 5., 6. und 7. Handschwinge stärker hervortritt. Abgesehen von einzelnen sog. Hungerstreifen ist aber keine weitere rhythmische Ablagerung des radioaktiven Isotops bemerkbar. Diese wird vielmehr durch eine gleichmäßige, breite Strahlungszone verdeckt, die eigenartigerweise nach basal in einer ganz bestimmten Weise scharf begrenzt wird. Ein Vergleich mit den Federn selbst ergibt, daß diese Grenze identisch ist mit dem Übergang des proximalen weißen Teiles zum dunklen, distalen pigmentierten Teil.

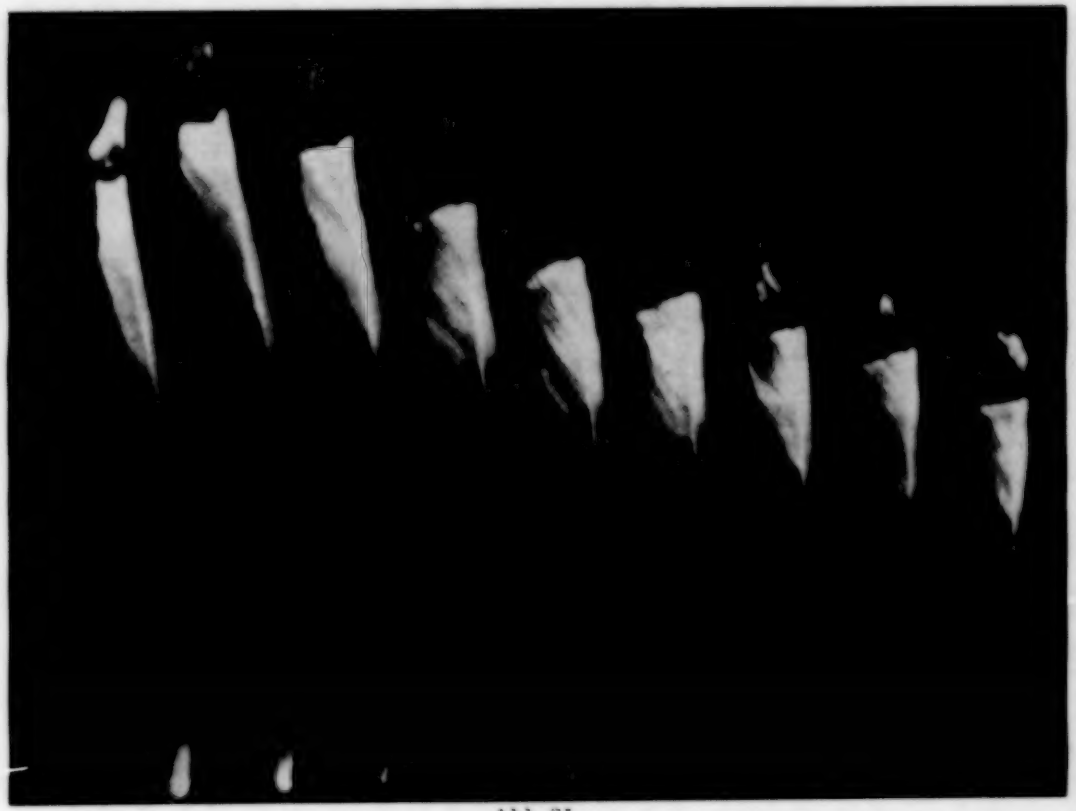


Abb. 31

Abb. 31. *Melopsittacus undulatus*. Negativ der Autoradiographie der linken Handschwingen in der Reihenfolge von links nach rechts. Die schmale Form, insbesondere der 10. Handschwinge ist darin begründet, daß die Federscheide nachträglich abpräpariert wurde. Beachte die scharfe proximale Begrenzung des radioaktiven Feldes, die mit der Grenze der pigmentierten Zone zusammenfällt. Nat. Größe

Abb. 32

Abb. 32. *Leiothrix luteus*. Negativ der Autoradiographie der 1. rechten Armschwinge als Sekundärfeder und der 2. als Primärfeder nach Injektion von 0,8 mC einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung. Versuchsdauer 43 Tage. Vergr. 2,6fach

Wenn auch nicht so ausgeprägt wie bei den Handschwingen, so konnte das gleiche Phänomen doch auch an den Armschwingen desselben Vogels beobachtet werden.

d) Bei Leiothrix luteus

Einem Männchen wurden 12 Tage nach der Entfernung einzelner Federn 0,8 mC einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung in die Brustmuskulatur injiziert. 41 Tage nach der Applikation wurden Hand- und Armschwingen sowie verschiedenes Kleingefieder entfernt und zum Nachweis der radioaktiven Strahlung auf ADOX-Röntgenfilme aufgelegt. Dabei konnten 1—2 schmale radioaktive Querbänder dicht an der Federspitze sowohl bei Hand- und Armschwingen als auch bei den Oberschwanzdecken festgestellt werden. Bei einzelnen dieser letzteren war sogar eine rhythmische Querbänderung zu beobachten, die sich 7—8mal wiederholte. Für die Armschwingen zeigt das Negativ der Autoradiographie der ersten rechten Feder das Spitzenquerband einer nachwachsenden Feder im Vergleich zu einer verbliebenen (Abb. 32). Infolge des starken Stoffwechsels der Tiere und der Empfindlichkeit des Gefieders, die ein Einschließen in Kunststoffhüllen verbot, war eine stärkere Verschmutzung nicht auszuschließen. Trotz dieser unregelmäßigen Verschmutzung ist das apikale Querband und das proximal davon gelegene erkennbar. Man achte auch hier auf die Winkelbildung zum proximalen Schaftteil, die der Winkelstellung der natürlichen Zuwachsstreifen entspricht.

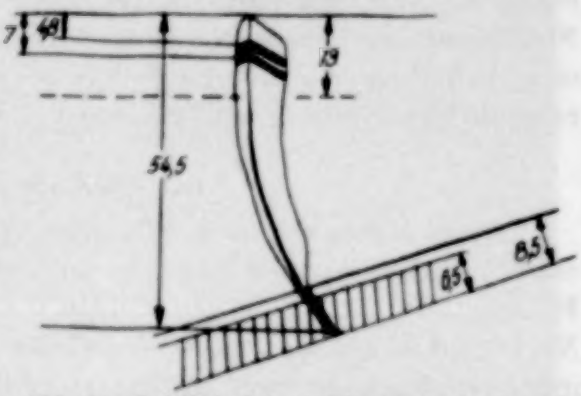


Abb. 33. *Leiothrix luteus.* Diagramm der 1. rechten Armschwinge mit den Angaben über die Länge der Feder, der Spule, des in der Haut verbliebenen Spulenteiles, des Außenteiles der Feder am Applikationstag und der Abstände der radioaktiven Querbänder von der Federspitze. Übrige Erläuterungen im Text

Für die erste rechte Armschwinge gibt das Diagramm der Abb. 33 die Zahlenwerte für die Gesamtfederlänge (54,5 mm), die Spulenlänge (8,5 mm), die Länge des in der Haut verbleibenden Spulenteiles (6,5 mm), die Außenlänge der Feder am Applikationstag (13 mm), sowie die distalen Grenzen der radioaktiven Querbänder (4,8 mm bzw. 7,0 mm) wieder. Aus diesem Diagramm geht also hervor, daß das radioaktive Material nach dem Applikationstermin um 8,2 bzw. 6,0 mm über das Oberflächenniveau der Haut emporgewandert sein muß.

Die zu Abb. 32 mitgeteilte Versuchsdauer ist an sich in gewisser Weise irreführend, da die Feder mindestens 19 Tage nach der Applikation

vollständig ausgewachsen war, wie durch Messung festgestellt werden konnte. Bei dieser Messung fiel infolge der Empfindlichkeit des Federmaterials die 5. Armschwinge aus. Sie begann dann nach einer Ruhezeit von etwa 10 Tagen zu wachsen und zeigte bei einer Länge von 36 mm 43 Tage nach der Applikation eine Scheide von 10 mm Länge und eine proximale Strahlungszone oberhalb der Scheide von 4,5 mm, wobei auch die Scheide selbst mit der Spule eine radioaktive Strahlung aufwies. Da bei den Arm- und auch Handschwingen keine solche proximale Strahlungszone beobachtet werden konnte und auch bei dieser 5. Armschwinge keine distale Strahlungszone auftrat, ist der Befund möglicherweise so erklärbar, daß man während des Wachstums der Jungfedern besondere Stoffwechselrhythmen annehmen muß, während derer eine Bildung und eine Aufnahme von für die Federn wichtigem Aufbaumaterial aus der radioaktiven Substanz stattfinden müssen.

e) Bei Pyrrhula pyrrhula

Einem Männchen und Weibchen von *Pyrrhula pyrrhula* wurden einzelne Schwung- und alle Schwanzfedern entfernt. 12 Tage nach der Federentfernung wurde den Vögeln 0,8 bzw. 0,5 mC einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert. Nach weiteren 27 Tagen wurden die Federn erneut entfernt und auf ADOX-Röntgenfilme aufgelegt.

Abb. 34 zeigt die Negative der Autoradiographien der 1., 3. und 5. nachgewachsenen Armschwinge im Vergleich zu der 2. und 4. verbliebenen Armschwinge. Die verbliebenen Armschwingen sind an ihrer Spitze durch radioaktiven Kot und Exkretstoffe verschmutzt. Die nachgewachsenen Armschwingen zeigen ein deutliches, sehr schmales apikales Querband, dem 2—3 schmale, schwächer strahlende Querbänder unmittelbar proximal folgen. Nach einer breiten, kaum strahlenden dunklen Zone, in der allein der Schaft etwas radioaktiv erscheint, folgt ein breiteres, helles, d. h. also strahlendes Querband, das kurz vor dem proximalen Ende der Federfahne noch durch rhythmisch strahlende Unterbrechungen des Federschaftes abgelöst wird. Auch der Spulenteil zeigt eine gewisse Strahlungsintensität, insbesondere in der Umgebung des Umbilicus superior.

Daß offenbar auch proximal von den apikalen rhythmischen Strahlungsbändern auf der wachsenden Federfahne weitere rhythmische Strahlungsschwankungen, sogar selbst in einem breiteren Strahlungsband auftreten können, zeigt das Negativ einer Autoradiographie der rechten Schwanzfedern eines weiblichen Vogels, dem 0,75 mC einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung in die Brustmuskulatur injiziert wurden (Abb. 35). Auf diesem Negativ sind alle Federn während der 39tägigen Versuchsdauer nachgewachsen.

Ein gleicher Rhythmus wurde auch bei den nachwachsenden Handschwingen und Oberschwanzdecken gefunden.

Abb. 34

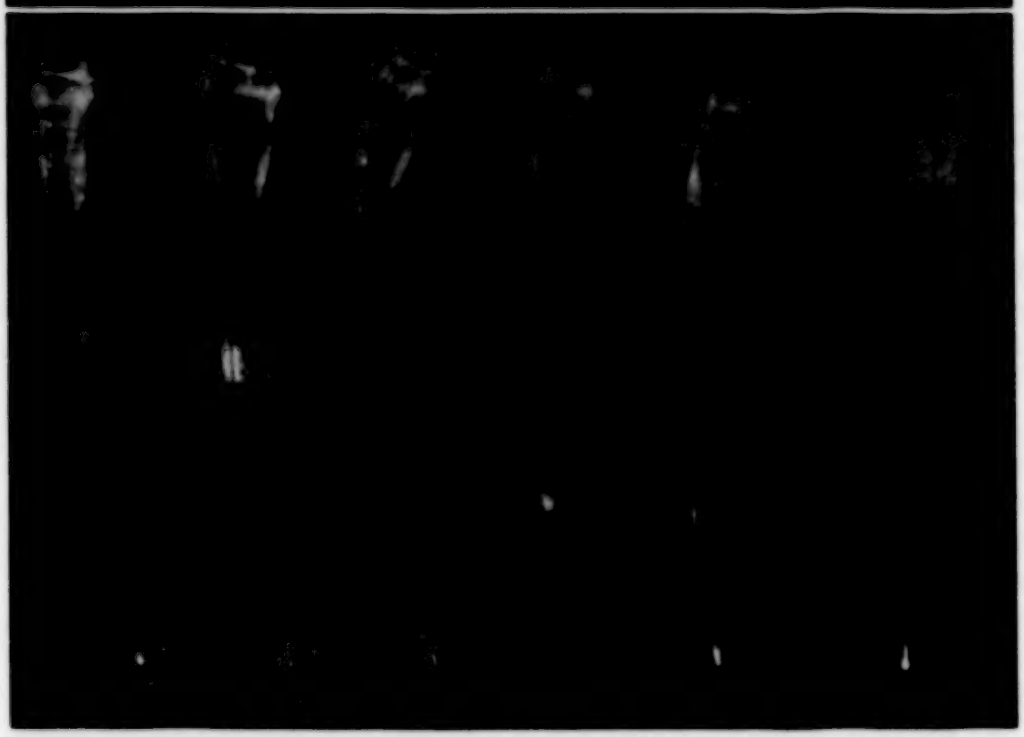


Abb. 35

Abb. 34. *Pyrrhula pyrrhula*. Negativ einer Autoradiographie der 1.—5. Armschwinge nach Injektion einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung in die Brustmuskulatur. Die 1., 3. und 5. Armschwinge sind nachgewachsen und kaum durch radioaktiven Kot verschmutzt, die 2. und 4. Feder wurden nicht entfernt und zeigen daher eine durch Exkretstoffe hervorgerufene Verschmutzung. Versuchsdauer 27 Tage. Übrige Erläuterungen im Text. Nat. Größe

Abb. 35. *Pyrrhula pyrrhula*. Negativ der Autoradiographie der rechten Schwanzfedern eines weiblichen Versuchstieres. Alle Federn wuchsen während der 39tägigen Versuchsdauer nach. Es wurden 0,75 mC einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung injiziert. Nat. Größe

Für eine genaue Auswertung der Lagebeziehung der verschiedenen radioaktiven Querzonen mag hier die rechte 5. Armschwinge des Männchens als Beispiel herangezogen werden. 12 Tage nach der Entfernung der Feder hatte die neu herauswachsende Sekundärfeder eine Außenlänge von 9,5 mm erreicht. An diesem Tage wurde die radioaktive Sulfatlösung in die Brustmuskulatur injiziert. 12 Tage nach dem Applikationsdatum erreichte die Sekundärfeder eine Außenlänge von 47 mm und war damit nahezu ausgewachsen, denn 27 Tage nach dem Applikationsdatum hatte sie sich nur um 3 mm verlängert, d. h. eine Außenlänge von 50 mm erreicht. Ihre Gesamtlänge betrug nach dem Entfernen aus der Haut 55 mm, ihre Spulenlänge 6,2 mm. Die beiden schmalen, relativ stark strahlenden distalen Querbänder, die noch durch eine 3., schwach strahlende Querlinie getrennt werden (diese wurde aus Übersichtsgründen in dem Diagramm der Abb. 36 fortgelassen), lagen 4 bzw. 7 mm von der Federspitze entfernt und unterstreichen somit das junge Federalter zur Applikationszeit. Sie müssen sogar durch ein Emporwandern des radioaktiven Materials über das Oberflächenniveau der Haut nach der Injektion der $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung gebildet worden sein, denn die Außenlänge der Feder war zu dieser Zeit bereits 5,5 bzw. 2,5 mm länger, und so groß kann die Abnutzungsquote der nachwachsenden Feder nicht veranschlagt werden. Das weiter proximal gelegene 7 mm breite Strahlungsband ist 14 mm von der Federspitze entfernt, eine Länge, die die Außenlänge der Feder zur Applikationszeit um 4,5 mm übertrifft. Dieser Befund besagt aber nicht, daß dieses breite Strahlungsband nicht auch oberhalb des Oberflächenniveaus zu einem späteren Zeitpunkt gebildet sein könnte. Noch weiter proximal befindet sich eine rhythmische Strahlungszone auf dem Schaft von etwa 8 mm Ausdehnung. Von der bei Versuchsende entfernten Feder waren von der 6,2 mm langen Spule 5 mm in der Haut verankert.

Abb. 36. *Pyrrhula pyrrhula*. Diagramm der 5. rechten Armschwinge eines Männchens 27 Tage nach der Applikation einer $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung. Die Außenlänge der Feder betrug bei der Applikation 9,5 mm. Man beachte die rhythmische distale Strahlungszone, das mittlere breite Strahlungsband und auf dem proximalen Schaftteil die rhythmische Strahlungsschwankung

Zusammenfassung

Hausrotschwänzen (*Phoenicurus ochruros* GMELIN), Elstern (*Pica pica* LINNÉ), Wellensittichen (*Melopsittacus undulatus* GOULD), Sonnen-

vögeln (*Leiothrix luteus* Scop.) und Dompfaffen (*Pyrrhula pyrrhula* Linné) wurde trägerfreies $Na_2{}^{35}SO_4$ in sterilisierter isotonischer Kochsalzlösung mit einer Aktivität von 1,0—2,0 mC/ml beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert oder peroral gegeben.

Die Applikation der radioaktiven Sulfatlösung erfolgte zu verschiedenen Zeiten des normalen Gefiederwachstums beim Jungvogel und auch nach der Mauser bzw. künstlichen Entfernung von Einzelfedern während des Wachstums der Sekundärfedern.

Deck- und Flugfedern wurden in wechselnden Zeitabständen nach der Applikation der $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung mit einem Geiger-Müller-Zählrohr und einem Zählrohrverstärker sowie auch autoradiographisch auf ihre radioaktive Strahlung hin mit folgenden Ergebnissen untersucht:

Das radioaktive Isotop wird in der Feder je nach der Applikationsmenge und den stoffwechselphysiologischen Gegebenheiten bei den verwendeten Vogelarten in Form schmaler Querzonen oder größerer Areale abgeschieden.

Die Winkel der radioaktiven Querzonen zu dem proximalen Schaftteil entsprechen denjenigen der natürlichen Zuwachsstreifen.

Auch die Breite der schmalen radioaktiven Querzonen entspricht derjenigen der natürlichen Zuwachsstreifen oder aber unter gewissen Umständen sogar derjenigen, die durch Tag- und Nachtunterschiede oder stoffwechselphysiologische Schwankungen bedingt sind und so auch bei den natürlichen Zuwachsstreifen eine Aufgliederung des 24-Stundenrhythmus verursachen.

Bei den Schwung- und Schwanzfedern der Wellensittiche konnte sogar eine mehrfache rhythmische Ablagerung des Isotops entsprechend dem 24-Stundenrhythmus der natürlichen Zuwachsstreifen über mehrere Tage hinaus nachgewiesen werden.

Außer diesen schmalen radioaktiven Querzonen waren breitere, nicht so stark strahlende Querbänder autoradiographisch nachweisbar, die einem mehr Zeit beanspruchenden stoffwechselphysiologischen Geschehen zugeordnet werden könnten. Sie werden erst mehrere Tage nach der Applikation des radioaktiven Isotops in der Feder angelegt.

Die schmalen radioaktiven Querzonen und auch die distalen Begrenzungen der größeren radioaktiven Areale ließen sich den Applikationsdaten zuordnen. Dabei war in allen Fällen, bei denen die untersuchten Federn sich in vollem Wachstum befanden, ein Emporwandern des radioaktiven Isotops bzw. seiner Derivate über das Oberflächenniveau der Haut nach dem Applikationstermin nachweisbar.

Bei Hand- und Armschwingen des Wellensittichs konnte in einem Fall sogar eine Angleichung der proximalen Begrenzung des radioaktiven Areals an die proximale Grenze einer Pigmentzone festgestellt werden.

Die im Gegensatz zu den Wellensittichen schnelle Ausscheidung des radioaktiven Isotops bei Elstern ermöglichte eine mehrfache Markierung an der gleichen Feder und eine entsprechende Zuordnung der radioaktiven Querzonen zu den Injektionsterminen sowie einen Vergleich zum Wachstum der Einzelfeder als auch eine vergleichende Betrachtung des Wachstums der Federn untereinander.

Bei kleinen Federn des gleichen Federtyps lagen die radioaktiven Querzonen bei gleichen Applikationsdaten und unter der Voraussetzung, daß sich die Federn in der einander entsprechenden Wachstumsphase befanden, näher beieinander als bei großen Federn, relativ aber weiter voneinander entfernt.

Vergleichende Messungen an Federn von Vögeln (Wellensittichen) des gleichen Käfigs gaben Veranlassung zu der Annahme zeitweiser gleichsinniger Änderungen der Wachstumsgeschwindigkeiten.

Eine Auswertung der Lagebeziehungen der radioaktiven rhythmischen Querzonen bei den Schwungfedern von Wellensittichen ergab einen leicht wellenartigen Verlauf der den Zuwachsraten entsprechenden Querzonenbegrenzungen gleicher Wachstumszeiten.

Für die chemische Federanalyse wurden Hydrolysate hergestellt. Eine Verbindung papierchromatographischer und autoradiographischer Methoden sowie das Abtasten von Papierchromatogrammen mit einem quantitativ arbeitenden Zählgerät, ermöglichte den Nachweis für die Ablagerung des radioaktiven Schwefels in der Feder in der Hauptsache als Cystin.

Meinen beiden Mitarbeitern, den Herren BRUNO GEIERHAAS und WERNER STÖSSEL, danke ich für hilfreiche technische Assistenz und dem *Landesgewerbeamt Baden-Württemberg* sowie der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für eine finanzielle Unterstützung dieser Untersuchungen.

Literatur

BACQ, Z. M.: Sur l'existence d'un rhythme nycthemeral de metabolisme chez le coq. Ann. Physiol. Physiochim. biol. **5**, 497—511 (1929).

BARott, H. G., J. C. FRITZ, E. M. PRINGOE and H. W. TITUS: Heat production and gaseous metabolism of young male chickens. J. Nutr. **15**, 145—167 (1938).

BERN, H. A., D. R. HARKNESS and S. M. BLAIR: Radioautographic studies of keratin formation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **41**, 55—60 (1955).

BOYD, G. A.: Autoradiography in biology and medicine. New York: Academic Press 1955.

DECKER, P., W. RIFFART u. G. OBERNEDER: Präparative Papierchromatographie. Naturwissenschaften **38**, 287 (1951).

FORBUSH, E. H.: Birds of Massachusetts and other New England States, vol. 3, p. 322. 1929.

FRAPS, R. M., and M. JUHN: Developmental analysis in plumage. II. Plumage configurations and the mechanism of feather development. Physiol. Zool. **9**, 319—377 (1936).

Gregg, W. E.: Subordinate markings in feathers of birds. Essex Nat. **27** (12), 300—303 (1945).

Greite, W.: Strukturbildung der Vogelfeder und ihre Pigmentierung durch Melanine. Z. wiss. Zool. **145**, 283—336 (1934).

Lillie, F. R., and M. Juhn: The physiology of development of feathers. I. Growth. rate and pattern in the individual feather. Physiol. Zool. **5**, 124—184 (1932).

—, and H. Wang: Physiology of development of the feather. IV. The diurnal curve of growth in Brown Leghorn fowl. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **26**, 67—85 (1940).

Lüdicke, M.: Über die radioaktive Strahlung des Insektenflügels nach Fütterung mit ^{32}P-Dinatriumhydrogenphosphat. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 1954, S. 412—417. Zool. Anz. Suppl. **18** (1955).

Mascha, E.: The structure of wing feathers. Smiths. Misc. Coll. **48** (1), 1—29 (1905).

Mayaud, Noël: Teguments et Phanères. In Pierre-P. Grassé, Traité de Zoologie, Anatomie, Systematique, Biologie. XV. Oiseaux, 4—77. Paris 1950.

Michener, Harold, and J. R. Michener: Bars in flight feathers. Condor **40**. 149—160 (1938).

Moore, A. C.: The effect of pressure and friction on photographic emulsions. Brit. J. appl. Phys. **2**, 20—25 (1951).

Riddle, O.: The genesis of fault bars in feathers and the cause of alteration of light and dark fundamental bars. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **3**, 289—294 (1908).

Stresemann, E.: Handbuch der Zoologie von W. Kükenthal, Bd. 7, 2. Hälfte. Sauropsida: Aves (1927—1934).

Strong, Ruben M.: A case of abnormal plumage. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **3**, 289—294 (1902).

Whitman, C. O.: The origin of species. Bull. Wiss. nat. Hist. Soc. **5**, 12 (1907).

Wood, H. B.: Growth bars in feathers. Auk **67**, 486—491 (1950).

Prof. Dr. Manfred Lüdicke,
Zoologisches Institut der Ruprecht-Karl-Universität, Heidelberg, Sophienstr. 6

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 174—183 (1961)

Torry Research Station, Aberdeen (Scotland)

NUCLEOTIDE CONCENTRATION IN CODLING (*GADUS CALLARIAS*) MUSCLE PASSING THROUGH *RIGOR MORTIS* AT 0°

By

N. R. Jones and J. Murray

With 3 Figures in the Text

(*Received October 3, 1960*)

Introduction

The nucleotide composition of mammalian muscle changes during the development of *rigor mortis* (see Bate-Smith[1], Bate-Smith and Bendall[2] for reviews). Bendall and Davey[3] and Dvořák[15] have recently described detailed studies on rabbit and beef muscles, based on the separation of extracts on ion-exchange resins. Very much less is known about nucleotide catabolism in fish muscle. Tarr[41] and Fujimaki and Kojô[16] investigated changes in the nucleotide composition of 2 Pacific species using a classical barium fractionation technique of uncertain specificity. Steinbach[43], Davison and Richards[12] and Partmann[29–31] have described the apyrase systems of a number of species. The gross rates of nucleotide dephosphorylation occuring in codling muscle after death have been measured by a barium fractionation procedure[42]. In preliminary communications[20, 26] we reported *post-mortem* changes in the adenine nucleotide composition of muscle from rested and exhausted codling, the nucleotides being estimated by quantitative ion-exchange chromatography. Recently, Saito and his collaborators[34–37] have carried out similar analyses on other fish species and squid.

In this paper we present additional data on changes in adenine nucleotides in dying muscle and correlate them to the development of *rigor*. Also, we report changes in the concentration of other nucleotides.

Experimental*

Material and Methods

Codling, 18—24 inches in length, were trawl-caught off Aberdeen and maintained aboard ship in circulating, aerated sea water. Fish so treated were physically exhausted on landing. Some were killed by a

* Abbreviations. AMP, adenosine 5′-monophosphate; ADP, adenosine 5′-diphosphate; ATP, adenosine 5′-triphosphate; IMP, inosine 5′-monophosphate; IDP, inosine 5′-diphosphate; ITP, inosine 5′-triphosphate; CMP, cytidine 5′-monophosphate; CTP, cytidine 5′-triphosphate; UTP, uridine 5′-triphosphate; GTP, guanosine 5′-triphosphate; DPN, diphosphopyridine nucleotide.

blow on the head and immediate immersion in liquid oxygen: these were the "zero time exhausted controls" referred to below. Others were killed by a blow on the head, eviscerated and stored in ice at an ambient 2.5°. Under these conditions, which simulate those in the holds of British fishing vessels, denaturation of the muscle proteins is minimal[7] and invasion of the muscle by microorganisms is delayed for some 6 days[41]. The remainder of the fish were maintained ashore in tanks of sea water on a diet of squid *ad lib* for 8 weeks. After this time these rested fish were treated in the same manner as the exhausted group. Preliminary experiment ascertained that killing the "zero time" exhausted and rested controls obtained by the above procedure gave levels of labile phosphorus in the muscle comparable with those obtained by rendering the fish comatose with urethane before killing.

Nucleotide analysis. Muscle was dissected from a position immediately anterior to the dorsal fin and above the lateral line and extracted into 0.6 *N* perchloric acid at 0°. The frozen samples were not allowed to thaw before extraction and the temperature of the others was not allowed to rise. Extracts were neutralised and fractionated on Dowex 1—8x (formate) by stepwise-gradient-elution. The procedures used were essentially based on those of HURLBERT, SCHMITZ, BRUMM and POTTER[18]. The elution was slightly modified by the introduction of an initial 2 *N* formic acid elution stage to lessen the congestion of the earlier peaks[21]. The components of the separated nucleotide peaks were identified as described previously[21] and their concentrations were estimated spectrophotometrically[4, 13]. The DPN peak, which was contaminated with CMP in separations of extracts of iced muscle but not in those of fresh material, was evaluated from its 325 mμ absorption in the presence of cyanide[5].

Leaching experiments at constant pH. Muscle (250 g.) was dissected from freshly killed, rested codling and homogenised into 1 l. of 0.2 *M* KCl at 0°. Aliquots (100 ml.) were immediately adjusted to pH 6.8 or pH 6.3 (corresponding to the *post-rigor* pH of exhausted and rested codling muscle respectively). The temperature and pHs were maintained for 15 hr. under toluene. After this time the preparations were centrifuged for 20 min. at 600 *g*. The sediments were washed 4 times with 0.2 *M* KCl (500 ml.), at the pHs of the stabilized homogenates, and recentrifuged. The washed sediments were extrated with 2 volumes of 0.6 *N* perchloric acid for the analysis of nucleotides.

Detection of rigor mortis. The sag of the tail was noted when the head of the fish was held in a horizontal position.

Detection of enzyme activity in post-rigor muscle. The following methods were used: ATP-ase[23]; myokinase[6]; AMP-deaminase[28]; 5′-nucleotidase—essentially that for seminal plasma[17]; DPN-ase[22]. Determinations were carried out on homogenates into 4 volumes of 0.2 *M* KCl. Suspensions

were centrifuged before spectrophotometric evaluation against enzyme "blanks" where necessary.

Results

Separations of the acid-soluble nucleotides from the muscle of freshly killed, rested and exhausted codling are shown in Fig. 1. The identity of the peaks, as shown, was ascertained as destribed previously[21]. Figs. 2

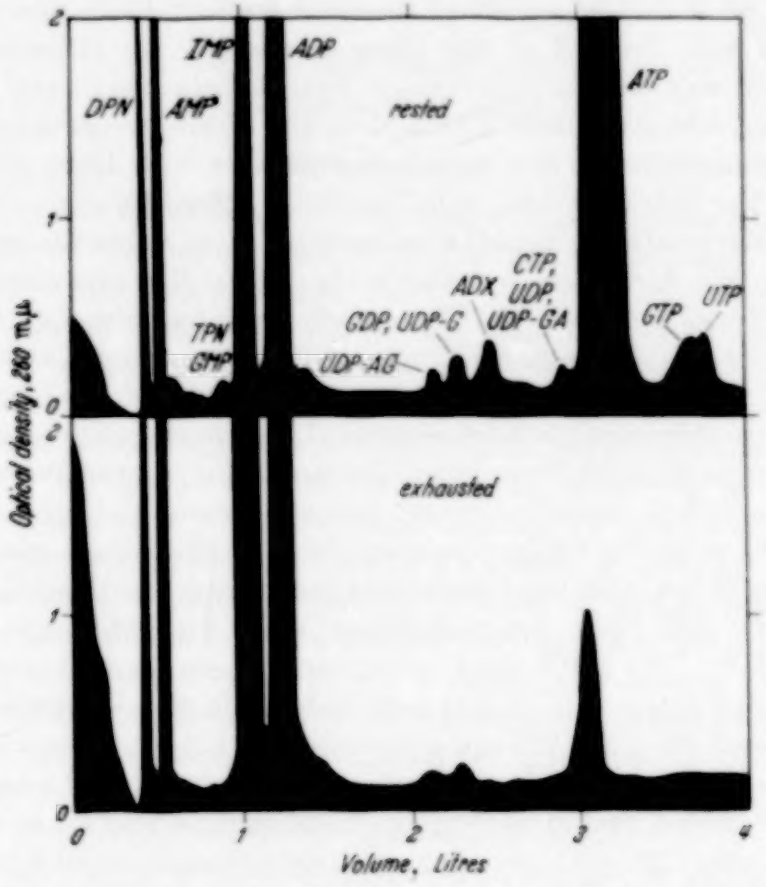


Fig. 1. Separations of acid-soluble nucleotides from the muscle of rested and exhausted codling. Column, Dowex 1—8 x (formate). Elution, stepwise-gradient; mixing-volume, 500 ml.; stages 320 ml. water, 470 ml. 2 *N* formic acid, 960 ml. 4 *N* formic acid, 880 ml. 4 *N* formic acid containing 0.2 *M* ammonium formate, 850 ml. 4 *N* formic acid containing 0.4 *M* ammonium formate, 500 ml. 4 *N* formic acid containing 0.8 *M* ammonium formate

and 3 illustrate the changes in the concentration of adenine and hypoxanthine nucleotides in codling muscle during a struggle to exhaustion. Also, they show changes during the development and resolution of *rigor* after the death of rested or exhausted fish (see details of *rigor* development below).

During a struggle to exhaustion, there was an almost complete conversion of ATP to IMP and concomitant falls in the levels of AMP and ADP.

After the death of rested fish, the ATP concentration fell rapidly initially, but remained roughly constant after 2 days. IMP in the muscle increased rapidly for about 1 day and decreased steadily thereafter. ADP increased also during the first day. The level fell rapidly throughout the second day, and, after this time, it remained constant. After a fall throughout the first 2 days, the level of AMP remained similarly stable. DPN in the muscle decreased for 4 days before the concentration became stabilized.

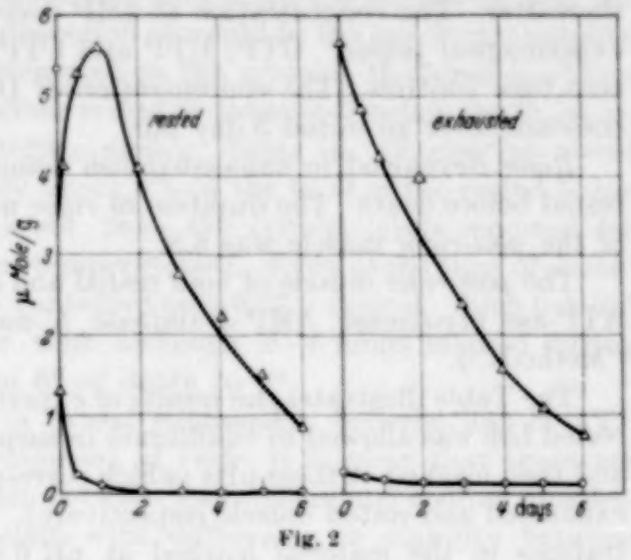


Fig. 2

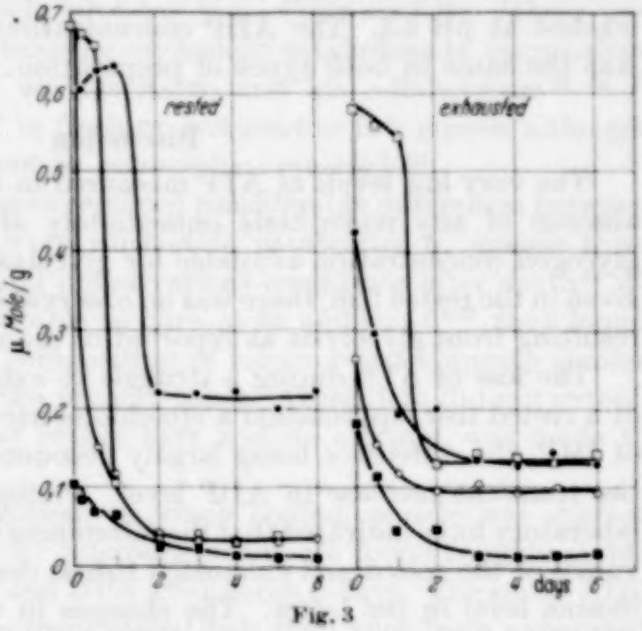


Fig. 3

Figs. 2 and 3. Post-mortem changes in the nucleotides of codling muscle at 0°. ATP ○, ADP ●, AMP □, IMP △, DPN ■. (For experimental details, see text.) Experimental points are mean values for 6 fish

Table. *Nucleotides remaining in suspensions of codling muscle after leaching*

Concentrations are quoted per g. of original muscle equivalent in the suspensions. For experimental condition see text. Values are means of 3 experiments.

Nucleotide	μ moles/g.	
	pH 6.3	pH 6.8
DPN	0.012	0.013
IMP	0	0
AMP	0.049	0.094
ADP	0.182	0.116
ATP	0.030	0.068
UTP	0	0
GTP	0	0

GTP (2.5×10^{-3} μ mole/g.), UTP (3.6×10^{-3} μ mole/g.) and traces of CTP were found in zero time rested controls. These compounds were not detectable in muscle 2 days after death.

The onset of *rigor* was observable in rested fish 6—7 hr. after death. They were in full *rigor* 3 hr. later. Resolution of *rigor* followed after a further 35—38 hr. The *post-rigor* pH of the muscle was 6.3.

In the muscle of exhausted fish, concentrations of AMP, ADP and ATP decreased for the first 2—3 days after death and remained stable thereafter. The concentration of IMP decreased throughout the 6 day experimental period. GTP, UTP and CTP were not detectable in the zero time controls. The concentration of DPN in the muscle remained constant after an initial 3 day fall.

Rigor developed in exhausted fish some 3 hr. earlier than in those rested before death. The duration of *rigor* was 6—9 hr. shorter. The pH of the *post-rigor* muscle was 6.8.

The *post-rigor* muscle of both rested and exhausted codling contained ATP-ase, myokinase, AMP-deaminase, 5′-nucleotidase and DPN-ase (see "Methods").

The Table illustrates the results of experiments in which muscle from rested fish was allowed to equilibrate in suspension at pH 6.8 and pH 6.3 and then leached at these pHs (which corresponded to those of *post-rigor* exhausted and rested muscle respectively). The ATP and AMP concentrations in the material leached at pH 6.8 were higher than in that leached at pH 6.3. The ADP concentration was lower. That of DPN was the same in both types of preparation.

Discussion

The very low levels of ATP measured in the exhausted fish, and the absence of any resynthesis immediately after death, reflect the low glycogen concentration available for glycolysis in fish muscle[24, 25, 39, 40]. Even in the rested fish, there was no observable maintenance of ATP level resulting from glycolysis as reported of mammalian muscle[2].

The loss of ATP during a struggle to exhaustion, or after the death of a rested fish, approached a stoichiometric relation to the appearance of IMP, the difference being largely accounted for in the latter case by the transient increase in ADP level Preliminary observations in this laboratory have indicated that the differences between the total nucleotide values of the rested and exhausted fish at death are reflected in a higher inosine level in the latter. The changes in the nucleotide composition result from the actions of enzymes which are also known to be active in mammalian muscle after death[2, 3].

Our results on the time courses of the fall in ATP concentration after death and of the onset of *rigor mortis* are of interest in relation to current theories about the causes of the development of *rigor*[2]. It is suggested[1, 2] that mammalian muscle goes into *rigor* when the ATP concentration falls below a minimum level necessary to plasticise the muscle proteins. Thus Bendall and Davey[3] reported that *rigor* commences in rabbit muscle on the disappearance of some 50% of the "resting" ATP concentration at room temperature or 25% at 37°.

Our method for detecting *rigor* in codling muscle lacked the precision of extensibility measurements, which have been successfully employed in such studies on mammalian tissue. But it has the advantage that the muscle is not stimulated by dissection as would be the case if extensibility measurements were to be attempted on fish muscle. Measured as above, codling went into *rigor*, whether rested or exhausted before death, at an ATP level of some 0.20—0.23 μ mole/g., being in full *rigor* at about 0.18 μ mole/g. This was only about 5% of the level in the rested living animal—and considerably lower than the critical levels reported for mammalian muscle at higher temperatures[3]. Even at the time of death, muscle from exhausted fish contained only 0.27 μ mole/g. Such fish did not go into *rigor* for some time although 4—6 hours elapsed during the fall of temperature from 6° at death to 0°.

Assuming that there is a causal relationship between loss of ATP from muscle and the development of *rigor*, it is clear that there are differences in this relationship between mammalian and codling muscles. These may, perhaps, correlate with differences in stability between mammalian and fish muscle proteins (e.g. CONNELL[8-10]). There are differences also between adenosine nucleotide catabolism in mammalian and fish muscle. Neither we nor SAITO and his collaborators[34, 35, 37] have detected IDP or ITP in fresh or *post-mortem* fish muscle although these compounds are present in mammalian muscle[3, 40].

The Japanese workers have reported considerable differences between the rates of turnover between nucleotide catabolites in muscle from different species of fish stored under various conditions after death[34-37]. However, in a study comparable to ours, at an ambient 0°[37], they found changes in the nucleotide composition of rainbow trout muscle similar to those that we report in the present paper. These data did not extend over the length of time we report here and no attempt was made to correlate them with *rigor*.

In the present investigation, in which codling muscle was studied until the onset of invasion by microorganisms, we found roughly stable values of AMP, ADP, ATP and DPN after about 2 days. The stable ADP level was higher in muscle from rested fish than that from exhausted fish and the levels of AMP and ATP were lower. The levels of DPN in *post-rigor* muscle from rested and exhausted fish were identical. These stable values were achieved in the presence of high enzymic activities capable of degrading the free nucleotides. Added nucleotides were broken down rapidly in the analogous homogenate systems. It is apparent that the nucleotides were present in *post-rigor* muscle in some protected form. The effect could not be that of a simple equilibration of "free" nucleotide, under the actions of the enzyme systems to which they were subject, as the level of IMP, produced by the action of AMP-deaminase,

was falling rapidly throughout the period of the experiment under the action of 5′-nucleotidase. Rather, it seems likely that, as we suggested in our preliminary communication[20], this stable fraction of adenine nucleotide corresponds to the "bound" nucleotide of the myofibrils, a fraction isolated originally from rabbit muscle by Perry[32]. Dvořák[15] has arrived at similar conclusions from his work on autolysing beef. The proportions of AMP and ATP to ADP in *post-rigor* rested muscle were in reasonable agreement with Perry's data on rabbit myofibrils: the proportions in the *post-rigor* exhausted muscle were considerably different. In an earlier paper[19], we suggested that differences in *post-rigor* pH were responsible for these variations, and in support of this, we described leaching experiments with acetate-veronal buffers. These experiments have now been repeated, under conditions of constant pH, but unbuffered to remove the possibility of interference with the muscle purine metabolism by veronal. The results were in good agreement with the earlier observations. At pH 6.8, that of *post-rigor* exhausted muscle, the level of ADP was lower, and those of AMP and ATP, higher than at the *post-rigor* rested muscle pH of 6.3.

Probably, the proportions of the individual nucleotides bound in myofibrils are not governed by simple electrostatic binding considerations. Drabikowski[14] has shown that many inert proteins will bind adenine nucleotides. Binding under such conditions increases with pH and with the number of phosphate groups in the nucleotide molecule. He demonstrated also that deamination of the adenosine moiety does not reduce the binding. Our results show considerable departures from these findings. Binding increased neither with the number of phosphate groups nor necessarily with pH. Furthermore, in experiments of longer duration, not reported in the present paper because of the complication of bacterial attack, the AMP level remained constant whereas IMP disappeared altogether. Our results suggest strongly that the pool of bound nucleotides is independent of the external nucleotide pool of the tissue and that the proportions of the different adenine nucleotides within the pool are determined by pH-dependent enzymic activities. In this relation it may be significant that at pH 6.8 the levels of ADP are lower and AMP and ATP higher than at pH 6.3 whereas the DPN levels are similar. These data correlate well with the known optimum activity of myokinase at pH 7.3 and the plateau of activity of DPN-ase between pH 6 and 7. Another possibility is that a situation similar to that described for the mitochondria of rat liver[33] operates. AMP, ADP and ATP enter into intramitochondrial pools at 30°, in isolated systems, as intact molecules in equilibrium with their extramitochondrial counterparts. Once established, the intramitochondrial pool is independent of the external nucleotide environment. Investigations into these possibilities are continuing.

Summary

1. Changes in the acid-soluble nucleotides of muscle from codling, rested or exhausted before death, have been estimated during passage through *rigor mortis*.

2. In muscle from both rested and exhausted fish, full *rigor* developed when the ATP concentration fell to about 0.18 μ mole/g. This level is low compared with published data on mammalian muscle.

3. After the resolution of *rigor*, the concentrations of ATP, ADP, AMP and DPN became stabilized. The stable level of ADP was higher in rested muscle than in the exhausted material and the ATP and AMP levels were lower. The stable DPN level was the same in both. We suggest that the differences reflect the effects of *post-rigor* pH.

4. The stable nucleotides appear to correspond to the "bound" nucleotide fractions isolated from myofibrils by other workers.

Acknowledgement. This work was carried out as part of the programme of the Department of Scientific and Industrial Research.

References

[1] Bate-Smith, E. C.: The physiology and chemistry of rigor mortis, with special reference to the aging of beef. Advanc. Food Res. **1**, 1 (1948).

[2] Bate-Smith, E C., and J. R. Bendall: Changes in muscle after death. Brit. med. Bull. **12**, 230 (1956).

[3] Bendall, J. R., and C. R. Davey: Ammonia liberation during rigor mortis and its relation to changes in the adenine and inosine nucleotides of rabbit muscle. Biochim. biophys. Acta **26**, 93 (1957).

[4] Bock, R. M., N.-S. Ling, S. A. Morrell and S. H. Lipton: Ultraviolet absorption spectra of adenosine 5′-triphosphate and related 5′-ribonucleotides. Arch. Biochem. **62**, 253 (1956).

[5] Ciotti, M. M., and N. O. Kaplan: Procedures for determination of pyridine nucleotides. In: Methods in enzymology, vol 3, p. 890, edit. by S. P. Colowick and N. O. Kaplan. New York: Academic Press 1957.

[6] Colowick, S. P.: Adenylate kinase. As ref. [5], vol. 2, p. 598.

[7] Connell, J. J.: Personal communication.

[8] Connell, J. J.: Studies on the protein of fish skeletal muscle. VI. Ultracentrifugal analysis of codling extracts. Biochem. J. **69**, 5 (1958).

[9] Connell, J. J.: Studies on the proteins of fish skeletal muscle. V. Molecular weight and shape of cod fibrillar proteins. Biochem. J. **70**, 81 (1958).

[10] Connell, J. J.: Studies on the proteins of fish skeletal muscle. VII. Denaturation and agregation of cod myosin. Biochem. J. **75**, 530 (1960).

[11] Cutting, C. L.: Immediate post-mortem changes in trawled fish. Ann. Rep. Food Invest. Bd. (Gt. Britain) 39 (1939).

[12] Davison, J. A., and A. G. Richards: Muscle apyrase activity as a function of temperature in the cockroach, crayfish and minnow. Arch. Biochem. **48**, 484 (1954).

[13] Dorough, G. D., and D. L. Seaton: A method for the extraction and assay of nucleic acid fragments in tissues. J. Amer. chem. Soc. **76**, 2873 (1954).

[14] Drabikowski, W.: The binding of adenine nucleotides by protein. Proc. 4. Internat. Congr. Biochem., Vienna, Sec. 2—86, p. 25, 1958.

[15] Dvořák, Z.: Breakdown of adenine nucleotides in beef muscle post mortem and its relation to the content of ammonia. Experientia (Basel) **14**, 133 (1958).
[16] Fujimaki, M., and K. Kojô: Handling effect upon biochemical change in fish muscle immediately after catch. II. Changes of acid-soluble phosphorus compounds of frigate mackerel. Bull. Jap. Soc. sci. Fisheries **19**, 499 (1953).
[17] Heppel, L. A., and R. J. Hillmoe: 5′-Nucleotidases. As ref. [5], vol. 2, p. 547.
[18] Hurlbert, R. B., H. Schmitz, A. F. Brumm and V. R. Potter: Nucleotide metabolism. II. Chromatographic separation of acid-soluble nucleotides. J. biol. Chem. **209**, 23 (1954).
[19] Jones, N. R.: Changes in the acid-soluble nucleotides of the muscle of Gadus callarias during exercise and after death. Proc. 4 Internat. Congr. Biochem., Vienna, Sec. 7—17, p. 84, 1958.
[20] Jones, N. R., and J. Murray: Nucleotides in the skeletal muscle of codling (Gadus callarias). Biochem. J. **66**, 5p. (1957).
[21] Jones, N. R., and J. Murray: The acid-soluble nucleotides of codling (Gadus callarias) muscle. Biochem. J. **77**, 567 (1960).
[22] Kaplan, N. O.: Animal tissue DPNase (Pyridine transglycosidase). As ref. [5], vol. 2, p. 660.
[23] Kielly, W. W.: Mg-activated muscle ATPases. As ref. [5], vol. 2, p. 588.
[24] Macleod, J. J. R., and W. Simpson: The immediate post-mortem changes in fish muscle. Contrib. Canad. Biol. Fish., N. S. **3**, 439 (1927).
[25] Macpherson, N. L.: Studies on the behaviour of the carbohydrates and lactic acid of the muscle of the haddock (Gadus aeglofinus) after death. Biochem. J. **26**, 80 (1932).
[26] Murray, J., and N. R. Jones: Post-mortem changes in acid-soluble nucleotides of rested codling muscle at 0°. Biochem. J. **68**, 9p. (1958).
[27] Newton, A., and S. V. Perry: The incorporation of ^{15}N into adenine nucleotides and their formation from inosine monophosphate by skeletal-muscle preparations. Biochem. J. **74**, 127 (1960).
[28] Nikiforuk, G., and S. P. Colowick: 5′-adenylic acid deaminase from muscle. As ref. [5], vol. 2, p. 469.
[29] Partmann, W.: To what extent does fish flesh break down through autolysis? Proc. Symp. Cured and Frozen Fish Technology. Swedish Institute of Food Preservation and Research, Publ. No 100, 15. Göteborg 1954.
[30] Partmann, W.: Effect of low temperature, sodium nitrite, sodium chloride and formaldehyde on the apyrase system of the muscular tissue. Food Res. **22**, 51 (1957).
[31] Partmann, W., and G. Nemitz: Zur Frage der Hitzeinaktivierung des Apyrasesystems der Karpfenmuskulatur. Naturwissenschaften **45**, 213 (1958).
[32] Perry, S. V.: The bound nucleotide of the isolated myofibril. Biochem. J. **51**, 495 (1952).
[33] Pressman, B. C.: Some inter-relationships of extra- and intra-mitochondrial nucleotide pools. Proc. 4. Internat. Congr. Biochem., Vienna, Sec. 6—20, p. 72, 1958.
[34] Saito, T., and K. Arai: Slow freezing of carp muscle and inosinic acid formation. Arch. Biochem. **73**, 315 (1958).
[35] Saito, T., and K. Arai: Further studies of inosinic acid formation in carp muscle. Bull. Jap. Soc. sci. Fisheries. **23**, 579 (1958).
[36] Saito, T., K. Arai and T. Tanaka: Changes in adenine nucleotides of squid muscle. Nature (Lond.) **181**, 1127 (1958).
[37] Saito, T., K. Arai and T. Yajima: Changes in purine nucleotides of red lateral muscle of rainbow trout. Nature (Lond.) **184**, 1415 (1959).

[38] Schlie, K.: Über die Totenstarre bei Seefischen und ihren Zusammenhang mit der beginnenden Zersetzung. Kälte-Ind. **31**, 115 (1934).
[39] Sharp, J. G.: Post mortem breakdown of glycogen and accumulation of lactic acid. Proc. roy. Soc. B **114**, 506 (1934).
[40] Sharp, J. G.: Post mortem breakdown of glycogen and accumulation of lactic acid at low temperatures. Biochem. J. **29**, 850 (1935).
[41] Shewan, J. M.: Personal communication.
[42] Shewan, J. M., and N. R. Jones: Chemical changes occurring in cod muscle during chill storage and their possible use as objective indices of quality. J. Sci. Food Agric. **8**, 491 (1957).
[43] Steinbach, H. B.: Temperature coefficients of muscle apyrase systems. J. cell. comp. Physiol. **33**, 123 (1949).
[44] Tarr, H. L. A.: The acid-soluble phosphorus compounds of fish skeletal muscle. J. Fisheries Res. Bd. Can. **7**, 608 (1950).

Dr. N. R. Jones, Department of Scientific and Industrial Research, Torry Research Station, 135 Abbey Road, Aberdeen, (Scotland)

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 184—231 (1961)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Tübingen

VERSUCHE ZUR GERUCHLICHEN ANLOCKUNG WEIBLICHER STECHMÜCKEN (*AËDES AEGYPTI* L., CULICIDAE)

Von

HEINZ PETER ROESSLER

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Oktober 1960)

Seite

A. Einleitung 184
B. Material und Methode 185
C. Experimente 189
I. Vorversuche zur Ermittlung des Einflusses von Temperatur, Feuchtigkeit, und Alter der Mücken bei der Nahrungssuche unter besonderen Versuchsbedingungen 189
1. Innere Faktoren 189
2. Die Bedeutung äußerer Faktoren 191
3. Folgerungen aus den Vorversuchen für einen Duftstofftest 198
II. Versuche zur Identifizierung von Duftstoffen. 199
1. Versuche mit Körperflüssigkeiten 200
2. Untersuchung verschiedener Urinfraktionen 206
3. Versuche mit reinen Substanzen 210
III. Papierchromatographische Versuche 217
IV. Wirkung der Duftstoffkonzentrationen 219
D. Diskussion der Ergebnisse 222
Zusammenfassung 227
Literatur 229

A. Einleitung

Die Stechmückenweibchen vermögen, wie verschiedentlich nachgewiesen, aus größerer Entfernung ihren Wirt zum Stechen aufzusuchen. In zahlreichen Untersuchungen ergab sich immer deutlicher, daß neben den an sich unspezifischen Faktoren Temperatur, Feuchtigkeit, Kohlendioxyd und optischen Reizen auch *Duftstoffe* des Wirtes bei der Orientierung der Mücken wirksam sind. Trotzdem bestehen aber immer noch erhebliche Unklarheiten über das Orientierungsverhalten bei der Nahrungssuche. Besonders hinsichtlich der Natur der Duftstoffkomponente liegen bisher kaum eindeutige Hinweise vor. Zusammenstellungen dieser Arbeiten finden sich in den Veröffentlichungen von LAARMAN (1955) und RAHM (1957).

Wohl war durch CRUMB (1922) die Lockwirkung der Atemluft und durch KENNEDEY (1939) die Aktivierung von *Aëdes aegypti* mit Hautausdünstungen nachgewiesen, aber experimentelle Schwierigkeiten ver-

zögerten die Auflösung des recht komplizierten Orientierungsverhaltens. Noch 1949 schrieb dazu BATES: "It is surprising in view of this to find an almost complete lack of experimental evidence to support the possible role of smell in governing the host-seeking mosquitos." VAN THIEL (1937) zeigte wie vor ihm REUTER (1936), daß Schweineblut Mücken anlockt, während es PARKER (1948) gelang, sie mit Schweiß anzulocken. Ein entscheidender Schritt wurde durch die Isolation einer Vakuumdestillationfraktion aus Rinderblut von SCHAERFFENBERG u. KUPKA (1951) getan, die mit dieser Stechmücken und Stechfliegen anlocken konnten. BROWN (1951) und BROWN et al. (1951) untersuchten auch die Lockwirkung des Schweißes, und THOMPSON u. BROWN (1955) stellten fest, daß menschlicher Schweiß von verschiedenen Körperstellen unterschiedlich wirkte.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, nach Ausarbeitung eines brauchbaren Testverfahrens, in dem alle als wirksam bekannten und für die Orientierung der Mücken wichtigen Faktoren konstant gehalten und jeweils auch für sich geprüft werden können, Stoffe zu finden, die im Körper des Wirtstieres vorkommen und eindeutig anlockend wirken.

Den Herren Prof. Dr. H. RISLER und Dr. Ing. H. TISCHNER danke ich für die Anregung zu dieser Untersuchung und für ihre beratende und materielle Hilfe. Ferner bin ich dem verstorbenen Direktor des Zoologischen Institutes, Herrn Prof. Dr. H. WEBER, dem ich ebenfalls wertvolle Hinweise verdanke, wie dem derzeitigen Direktor, Herrn Prof. Dr. K. G. GRELL dafür zu Dank verpflichtet, daß sie in großzüger Weise Raum und Material zur Verfügung gestellt haben.

B. Material und Methode

a) Das Versuchstier. Bei den Experimenten sind ausschließlich Weibchen von *Aëdes aegypti* (L.) verwendet worden. Diese Stechmückenart ist für die Untersuchungen besonders gut geeignet, weil sie leicht zu halten und jederzeit in ausreichender Menge für die Versuche zu beschaffen ist. Ein günstiger Umstand ist ferner, daß *Aëdes aegypti* gern bei Licht sticht und keinen ausgeprägten Tagesrhythmus zeigt. LUMSDEN (1957) fand 4 Maxima der Stechaktivität am Tage, die sich zum Teil um 2 Std verschieben können, und 3 weitere des Nachts, so daß die Tiere gleichsam den ganzen Tag über stechen. Für vergleichbare Untersuchung im Laboratorium ist es notwendig, Versuchstiere zu verwenden, die in ihrem Verhalten und ihrer Reaktionsstärke gleich sind. Es wurde deshalb große Sorgfalt bei der Haltung und Aufzucht der Mücken geübt. Die im Thermostaten bei 27 bis 28° C im Dauerdunkel gezüchteten Larven wurden mit Leber gefüttert. Die mittleren Entwicklungszeiten unter diesen Bedingungen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1. *Mittlere Entwicklungsdauer der einzelnen Metamorphosestadien in Tagen bei 27—28° C im Dauerdunkel*

Larvenstadien				Puppe	Imago
I	II	III	IV	erste	erste
1,2	3,3	5,6	7,4	8,7	11,5
				letzte	letzte
				21,5	24,7

Die Werte stimmen mit den Angaben von G. BRAUN (1955) und M. BAR-ZEEV (1958) überein. Die Abweichung von den mittleren Entwicklungszeiten und ihre Schwankungen sind durch unregelmäßige Nahrungsaufnahme in den dichtbesetzten Zuchtgefäßen verständlich, wie sie auch BAR-ZEEV (1957) nachweisen konnte.

Die in den Massenzuchtgefäßen geschlüpften Imagines wurden für die Versuche alle 48 Std abgefangen und nach Geschlecht gesondert. Die Weibchen wurden in Glasgefäßen gehalten. Nur zu einem geringen Teil hatten die Weibchen bereits in den Aquarien kopuliert. Sie wurden in einem Thermostaten bei 27—28°C und 70% relativer Feuchtigkeit ohne Blutmahlzeit im Dauerdunkel gehalten und nur mit Wasser und Zuckerwasser als Nahrung bis zu den Versuchen nach 11—14 Tagen versehen. Je 50 Weibchen wurden aus dem Kollektiv für die Experimente herausgefangen und in Versuchskäfige gesetzt. Bei diesem Verfahren bestand eine Altersvariation bis zu 48 Std zwischen den Versuchstieren einer Gruppe. Diese Mücken reagierten heftig auf einen Wirt. Ein Teil der Weibchen kam zur Nachzucht zusammen mit den Männchen in große Gazekäfige. Die Weibchen konnten zur Eientwicklung von einem lebenden Kaninchen Blut aufnehmen. Die abgelegten Eier wurden in der üblichen Weise auf Filtrierpapier gesammelt und nach Bedarf zum Schlüpfen der Larven in Wasser gelegt.

b) Die Versuchsapparatur. Um die Wirkung verschiedener Duftstoffe auf die Mücken zu erproben, wurde eine Versuchsapparatur konstruiert, die es ermöglicht, die Größen, welche auf das Flugverhalten der Stechmücken einen Einfluß haben, konstant zu halten. Diese Apparatur ist eine Erweiterung und Abwandlung der von HOSKINS u. CRAIG (1934) und WIETING u. HOSKINS (1939) beschriebenen Einrichtung, wobei die Erfahrungen, die WILLIS u. ROTH (1952) sowie LAARMAN (1955) mit ähnlichen „Olfaktometern" gemacht haben, berücksichtigt wurden.

Eine solche Versuchsapparatur muß eine Reihe von Bedingungen erfüllen: Sie hat eine Temperatur und ein bestimmtes Temperaturgefälle konstant zu halten, aber muß trotzdem die Möglichkeit bieten, schnell eine andere Temperatur zu wählen, um die Reaktion der Mücken in verschiedenen Temperaturbereichen untersuchen zu können. Im Versuchsraum muß ein definierter Luftstrom und eine einheitliche Kohlendioxydkonzentration herrschen. Die Duftstoffe müssen im gleichen Maße, wie sie einströmen, wieder entfernt werden können. Zudem ist es erforderlich, daß eine bestimmte relative Feuchtigkeit und ein Feuchtigkeitsgefälle gehalten wird. Die Tiere selbst sollen gut zu beobachten sein. Alle Einwirkungen des Experimentators auf die Versuchstiere sind auszuschalten.

Der nach diesen Gesichtspunkten konstruierte Apparat besteht zur Wärmeisolierung aus 2 ineinandergestellten Holzkästen, von denen der innere (Abb. 1) 200 cm lang, 66 cm breit und 50 cm hoch ist. Diesen Raum erwärmt eine Heizlampe, die durch ein Kontaktthermometer reguliert wird. Ein Umwälzer sorgt für die gleichmäßige Warmluftverteilung im „Heizraum" (*H*). Diese Einrichtung wurde einem Wasserbad vorgezogen, da so im Bedarfsfall eine schnelle Temperaturänderung möglich ist. Durch den Heizraum führt ein System von Glasrohren, die untereinander mit Glashähnen verbunden sind, so daß ein über Aktivkohle gefilterter Luftstrom aus einer Druckluftleitung (*Dl*) in allen Richtungen durch das System geschickt werden kann. Das Röhrensystem endet in Trichteröffnungen (*T I—IV*), die frei in den „Versuchsraum" (*V*) (52 × 66 × 50 cm) münden. Diese Glastrichter von 7 cm Durchmesser haben 10 cm Abstand voneinander und sind 10 cm über dem Boden des Versuchsraumes angebracht. Durch Staudruckmesser (*M*) wird die Strömungsgeschwindigkeit unmittelbar vor dem Austreten der Luft aus den Trichtern kontrolliert. Durch Verstellen der Dreiwegehähne (*G*) kann für jede Trichteröffnung ein beliebiger Luftstrom eingeregelt werden. Auf dem langen Weg durch die Glasrohre erwärmt sich die Luft in großen Gefäßen, in denen sie lang-

samer strömt, wobei dieser Prozeß beschleunigt wird. Die Lufttemperatur im Heizraum ist um 10—14° C höher als im Versuchsraum. Die Holzwand zwischen Heiz- und Versuchsraum ist daher wärmer als die übrigen Versuchsraumwände, jedoch erheblich kühler als die aus den Trichtern ausströmende Luft, so daß sich zu den gegenüberstehenden kühleren Glasscheiben (*S*) ein Temperaturgefälle ausbildet, das durch eine weitere Heizung (H_2) vor dem Fenster verändert werden kann.

Außerhalb der Versuchsapparatur wird in einem erwärmten, mit Wasser gefüllten Kolben die Versuchsluft mit Wasserdampf gesättigt. Anschließend gelangt sie durch ein geheiztes Rohr in ein weiteres Gefäß, das in einem Wasserbad auf einer bestimmten Temperatur gehalten wird, welche niedriger ist als die Temperatur

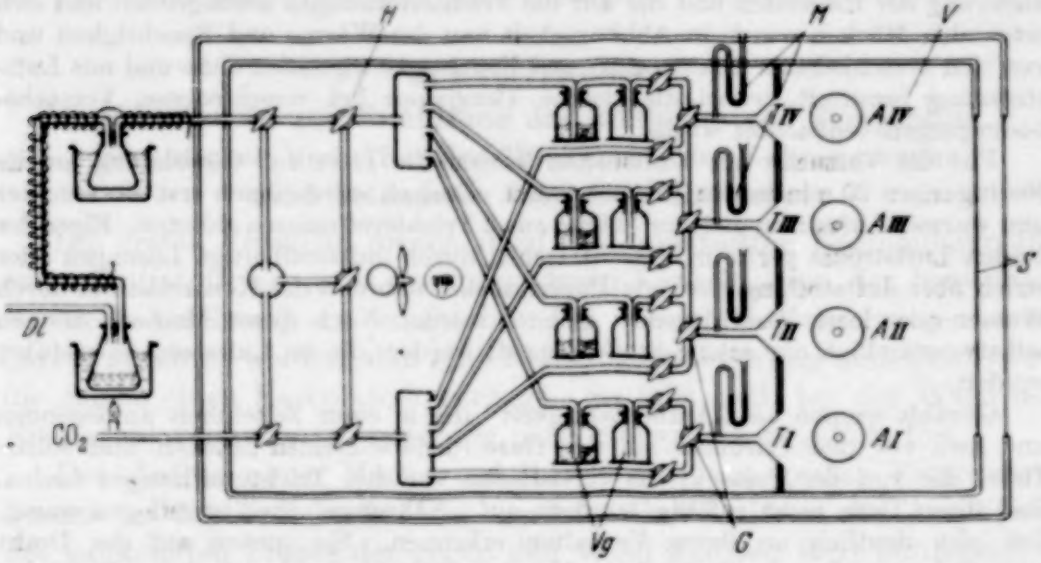


Abb. 1. Schema der Versuchsapparatur. *H* Heizraum, *V* Versuchsraum, T_{I-IV} Einströmöffnungen I—IV, A_{I-IV} Absaugöffnungen I—IV, *G* Dreiwegehahn, *S* Glasscheiben, *Dl* Druckluft, CO_2 = Eintritt für Kohlendioxyd, *M* Staudruckmesser, *Vg* Verdampfungsgefäß

des ersten Kolbens. Der überschüssige Wasserdampf kondensiert. Diese nun vollständig mit Wasserdampf gesättigte Luft gelangt durch ein ebenfalls geheiztes Rohr in den Thermostaten der Apparatur und wird dort wieder erwärmt. Aus der Temperaturdifferenz, der aus den Trichtern strömenden Luft und der Temperatur des Kondensationsgefäßes kann man die relative Feuchtigkeit der Luft selbst bei größeren Strömungsgeschwindigkeiten bestimmen und konstant halten. Die errechneten Werte werden mit dem Hygrometer kontrolliert; Rechnung und Messung stimmen überein. Mit trockenem, gekörnten Claciumchlorid wird die relative Feuchtigkeit im Versuchsraum selbst niedrig gehalten, so daß sich vor der Einströmöffnung ein Feuchtigkeitsgefälle ausbildet.

Zur Beobachtung der Versuchstiere hat der Versuchsraum an der Vorderfront ein Fenster (*S*), das durch doppelte Glasscheiben nach außen isoliert ist. Im Versuchsraum werden die Mücken in kleinen Gazekäfigen den aus den 4 Trichtern ausströmenden Stoffen ausgesetzt (Abb. 7). Unterhalb der Einströmöffnungen befinden sich 4 weitere Trichteröffnungen (*A I—IV*), durch welche die duftstoffangereicherte Versuchsluft im gleichen Maße mit Wasserstrahl abgesaugt wird, wie sie einströmt. Da die einströmende Luft wärmer ist als die Luft im Versuchsraum, steigt sie nach dem Eintritt nach oben. Durch die Absaugöffnungen wird sie aber nach unten abgelenkt. Das ergibt im Versuchskäfig eine fast horizontale Luftströmung. Damit die Mücken gut zu erkennen sind, wird der Versuchsraum nicht

nur von oben beleuchtet, sondern die mit Gaze überspannten Trichteröffnungen werden durch je eine Glühlampe niedriger Leistung aus dem Heizraum angestrahlt. Die Trichteröffnungen sind deshalb etwas heller als die anderen Teile der Rückwand. Eine Beeinflussung der Mücken durch diese hellere Fläche konnte nicht beobachtet werden. Dagegen zeigte sich, daß die gleichmäßige Beleuchtung des übrigen Versuchsraumes einen günstigen Einfluß auf die Stechaktivität von *Aëdes aegypti* hat.

e) Die Versuchsdurchführung. Die Versuche wurden jeweils mit 50 Mücken gleichen Alters durchgeführt, die in einem kleinen, leicht auswechselbaren Gazekäfig $30 \times 30 \times 15$ cm vor 2 Trichteröffnungen gebracht wurden. Die Reaktionsänderung der fliegenden und der auf die Trichteröffnungen anfliegenden und sich setzenden Mücken wurde in Abhängigkeit von der Wärme und Feuchtigkeit und von den verschiedenen Temperatur- und Feuchtigkeitsgefällen ohne und mit Luftströmung ermittelt, wobei die gleiche Tiergruppe bei verschiedenen Versuchsbedingungen beobachtet wurde.

Für die Versuche mit Duftstoffen kamen die Tiere zur Gewöhnung an die Bedingungen 20 min in den Versuchsraum. Danach wurde ihnen erst ein feuchter und warmer Luftstrom gleicher Stärke aus 2 Trichteröffnungen geboten. Einer der beiden Luftströme perlte in Waschflaschen durch duftstoffhaltige Lösungen oder strich über duftstoffangereicherte Papierstücke, während der Kontrollstrom durch Wasser oder leere Waschflaschen geleitet wurde. Nach dieser Methode können selbstverständlich nur solche Stoffe geprüft werden, die im Luftstrom mitgeführt werden.

Gezählt werden als „Anflughäufigkeit" die in einer Zeiteinheit anfliegenden und sich vor den Trichtern auf der Gaze niedersetzenden Mücken und solche Tiere, die von der Seite in die Kreisfläche vor den Trichteröffnungen laufen. Daß diese Tiere nicht zufällig, sondern auf „Nahrungssuche" angeflogen waren, ließ sich deutlich an ihrem Verhalten erkennen. Sie suchen auf der Drahtgaze und versuchen durch das feine Maschengitter hindurchzustechen. Die dabei typische Stechhaltung war deutlich zu erkennen. Diese Reaktion gleicht dem Verhalten einer Mücke auf einem Kleidungsstück, durch welches sie zu stechen versucht. Nach mehreren erfolglosen Versuchen fliegen sie auf, um nach kürzerem oder längerem Suchflug erneut anzufliegen. Diese „Rückkehrer" werden als Neuanflüge mitgezählt, da bei zahlreichen Ab- und Anflügen nicht jedes einzelne Tier dauernd im Auge behalten werden kann. Bis zu 80 Anflüge je Minute konnten so noch gezählt werden. Daher wurde die Zahl der verwendeten Versuchstiere auf 50 begrenzt, um nicht eine unzählbare Anflughäufigkeit zu erhalten. Diese Versuchstiermenge war andererseits ausreichend, um zufällige individuelle Reaktionsunterschiede zwischen Wiederholungsversuchen zu verringern, und gewährleistete während der Dauer eines Versuches immer einen ausreichenden Prozentsatz aktiver Tiere.

Die Versuche wurden als Wahlversuche zwischen einer Test- und einer duftfreien Kontrollseite durchgeführt und nur die Abweichung zwischen beiden Seiten bewertet. Nach abwechselndem, 6maligen Zählen der Anflüge auf beiden Seiten wurde 10 min lang ein reiner Luftstrom durch beide Trichter geschickt, um alle Duftstoffe aus den Trichteröffnungen und dem Versuchskäfig zu entfernen. Danach wurde durch Umstellen der Dreiwegehähne (*G*) der Duftstrom zu der vorherigen Kontrollöffnung geleitet. Dieses Prinzip der gleichzeitigen Kontrolle der neben den Duftstoffen für die Orientierung wesentlichen Komponenten und der Seitenwechsel waren von großer Wichtigkeit. Es wurde dadurch die Bevorzugung einer Seite im Versuchskäfig und ein möglicher Dressureffekt vermieden. Im Gegensatz zu einem der Kontrolle zeitlich folgenden Test, z. B. der Duftstoffe, war bei diesem

Verfahren das Verhalten der Mücken unabhängig von Schwankungen in der Reaktionsfähigkeit der Tiere auf Temperatur, Feuchtigkeit und Luftströmung. Diese Methoden wurden mit Ausnahme einiger Temperaturuntersuchungen bei allen Versuchen angewendet. Die so ermittelte Anflughäufigkeit ist ein Maß für die „Anlockung". Es ist verständlich, daß bei diesem komplexen Reaktionsverhalten schwer zu entscheiden ist, ob die einzelnen Komponenten eine „Anlockung" im Sinne einer Richtungsweisung zur Reizquelle auslösen. Andererseits kann eine bloße „Aktivierung" der Mücke erfolgen, die erst im Zusammenspiel mit anderen Faktoren zu einer gerichteten Bewegung zum Wirt führt. Es soll deshalb in den Fällen, in denen eine Entscheidung dieser Frage nicht möglich ist, die Bevorzugung der Testtrichteröffnung nur als „positive Reaktion" beschrieben werden.

C. Experimente

I. Vorversuche zur Ermittlung des Einflusses von Temperatur, Feuchtigkeit und Alter der Mücken bei der Nahrungssuche unter besonderen Versuchsbedingungen

Die ersten Versuche dienen dazu, die günstigsten Bedingungen für einen Duftstofftest unter den besonderen Verhältnissen der benutzten Versuchseinrichtung zu ermitteln. Bei diesen Untersuchungen muß darauf geachtet werden, daß eine Nahrungsorientierung und nicht etwa die Suche eines Rastplatzes vorliegt. So fällt z. B. bei der Wahl des Eiablageplatzes eine Orientierung nach einem Wärmegefälle fort.

Der Anflug einer Mücke auf ihre Beute aus großer Entfernung konnte im Freiland beobachtet werden. Dabei nimmt die Amplitude des gaukelnden Fluges der gegen den Wind auf den Wirt zufliegenden Mücke mit der Annäherung ab, bis schließlich der Anflug ziemlich geradlinig und schnell erfolgt. Nach dem Niedersitzen beginnt sie mit dem Stechrüssel die Haut abzutasten und führt dabei seitlich pendelnde Bewegungen aus. Beim Einstich werden der Kopf und Thorax in charakteristischer Weise abgewinkelt. Nach einem erfolglosen Einstich wiederholen sich die Such- und Stechbewegungen. Dieses Verhalten ist bezeichnend und leicht zu beobachten. Erst die Gesamtheit dieser Reaktionen, das Anfliegen und Sich-niedersetzen, geben einen sicheren Anhalt dafür, daß die Mücke Nahrung sucht.

Um den Einfluß der verschiedenen Komponenten in einer Versuchsapparatur festzustellen, wird gesorgt, daß die für den gesamten Reaktionsablauf notwendigen Reize (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Licht usw.) optimal geboten werden und sich während des Versuches nicht ändern können.

1. Innere Faktoren

Auf das Wirtsorientierungsverhalten wirken neben exogenen Einflüssen auch endogene Faktoren. So ist seit langem bekannt, daß befruchtete Weibchen von *Aëdes aegypti* ihre Stechaktivität in enger Beziehung zum Eireifungszyklus ändern. Lavoipiere (1958) konnte

zeigen, daß die Stechaktivität durch die Begattung gehemmt wird, wenn Blutnahrung bereits die Eientwicklung ausgelöst hat. Außerdem nahm die Stechaktivität während der Eiablage ab. Vor einer Blutaufnahme dürfte die Kopulation keine oder nur eine kurzfristige Verringerung der Stechaktivität bewirken. Um diese Faktoren auszuschalten, wurden die Mücken vor den Versuchen weder mit Blut noch mit einer aminosäurehaltigen Nahrung gefüttert, die nach SINGH und BROWN (1957) ebenfalls eine Eireifung auslöst. So wurde die Eientwicklung gehemmt und eine damit verbundenen Stechaktivitätsänderung verhindert.

PARKER (1952) vermutete, daß die Aktivitätsänderungen von *Aëdes aegypti* bei der Beutesuche von den Aufzuchtbedingungen der Larven und der Vorbehandlung der adulten Tiere abhängig war. Um derartige Schwankungen von Anfang an auszuschalten, wurden die Versuchstiere unter gleichen und konstanten Bedingungen gehalten.

Die Abhängigkeit der Nahrungssuchreaktion vom Alter der Mücken wurde von PARKER mit Versuchsgruppen durchgeführt, deren Altersunterschiede innerhalb einer Gruppe recht groß waren, so daß die Art des Einflusses nicht schlüssig bewiesen werden konnte. Ordnet man dort die Reaktionen nach dem mittleren Alter der untersuchten Gruppen, so steigt die Anflughäufigkeit bis zum 6. Tag nach dem Schlüpfen an und bleibt maximal bis zum 9. Tag. Bei älteren Tieren geht die Anflugstärke zurück. BURGES u. BROWN untersuchten 1957 die Anlockung gleich alter Mücken mit Blut an 16 aufeinanderfolgenden Tagen bis zum 17. Lebenstag und fanden eine maximale Anlockung zwischen dem 2. und 5. Tag.

Alter der Versuchstiere. In den ersten Stunden nach dem Schlüpfen vermögen die weiblichen Stechmücken nicht zu stechen, da das Chitin ihrer Mundwerkzeuge noch nicht erhärtet ist. Sie scheinen nach BURGES u. BROWN (1957) auch nicht auf Duftstoffe zu reagieren. In unserer Versuchsapparatur gilt die „Flugaktivität", die Anzahl fliegender Mücken in einer Minute bei konstanten Bedingungen, als Maß für ihre Aktivität. Obwohl diese Reaktion kein Ausdruck der Gesamtaktivität der Tiere sein kann, wird sie dennoch wegen der leichten Registrierbarkeit für die Abhängigkeit der Aktivität vom Alter der Mücke verwendet (Tabelle 2). Nach Zunahme der mittleren Flugaktivität bis zum 7. Lebenstag ändert sich die Aktivität zwischen 8—22 Tage alten Mücken nur noch geringfügig. Eine schwache Zunahme an fliegenden Mücken wurde zwischen dem 14.—19. Tag beobachtet, während Tiere, die älter als 23 Tage waren, im allgemeinen wieder lebhafter fliegen. Auffallend ist die geringe Flugaktivitätsänderung 11—13 Tage alter Mücken bei verschiedenen Versuchsraumtemperaturen.

Tabelle 2. *Anzahl der pro Minute fliegenden Mücken verschiedenen Alters in Tagen seit dem Schlüpfen*

	Alter in Tagen								
	0—4	5—7	8—10	11—13	14—16	17—19	20—22	23—25	26—30
Fliegende Tiere pro min in %	4,0	6,2	8,3	7,8	9,3	9,0	7,8	12,3	10,6
Anzahl der Versuche . .	12	352	893	2721	1036	462	293	57	83

Die „Anflughäufigkeit", das ist die Anzahl der Mücken, welche gegen einen Luftstrom auf eine warme und feuchte Fläche zum Stechen anfliegen, ist ebenfalls altersabhängig (Tabelle 3). 5—7 Tage alte Tiere

Tabelle 3. *Mittlere Anflughäufigkeit abhängig vom Alter in Tagen seit dem Schlüpfen*

	Alter in Tagen							
	0—4	5—7	8—10	11—13	14—16	17—19	20—22	23 und mehr
Anflüge pro min	10,1	15,1	14,5	13,5	16,1	20,6	17,8	22,1
Anzahl der Versuche . . .	6	399	573	1378	646	230	149	346

zeigen eine starke Anflugreaktion, die zunächst mit zunehmendem Alter bis zum 11. Tag geringfügig abnimmt, um dann nach dem 13. Lebenstag wieder stärker zu werden. Auch für dieses Verhalten ist die Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit bei 11—13 Tage alten Mücken am geringsten.

Damit ist noch nicht entschieden, ob das effektive Alter seit dem Schlüpfen oder die Zeit ohne Blutnahrung den entscheidenden Einfluß auf die Reaktionsänderung hat. Für die vorliegenden Untersuchungen ist die Frage insofern bedeutungslos, als die Mücken vor den Versuchen immer in der gleichen Weise behandelt wurden.

2. Die Bedeutung äußerer Faktoren

a) Temperatur. Als erster konnte Howlett (1910) an *Culex fatigans* und *Aëdes scutellaris* nachweisen, daß die Temperaturen des Wirtes die Mücken zur Nahrungsquelle orientieren. Besonders gründlich wurde die Bedeutung der Wärmestrahlung für die Orientierung von de Long (1949) und Peterson u. Brown (1951) untersucht mit dem Ergebnis, daß nur die Konvektionswärme und keine Strahlung Einfluß auf die Mücken hat.

Zunächst konnte die Bedeutung der Versuchsraumtemperatur auf das Orientierungsverhalten an der veränderten Flugaktivität untersucht werden (Tabelle 4). Im Alter bis zu 13 Tagen nahm allgemein die mittlere Flugaktivität mit steigender Erwärmung zu. Tiere zwischen

Tabelle 4. *Mittlere Flugaktivität in Prozent der verwendeten Tiere bei verschiedenen Versuchstemperaturen*

Alter in Tagen seit dem Schlüpfen	Temperatur							
	von 25—26,9° C		27—27,9° C		28—28,9° C		29—30° C	
	Flugaktivität in % des Gesamten	n	Flugaktivität in % des Gesamten	n	Flugaktivität in % des Gesamten	n	Flugaktivität in % des Gesamten	n
5— 7	8,8	36	11,4	111	14,2	109	13,9	96
8—10	15,0	84	14,2	90	18,4	197	16,6	522
11—13	14,0	210	14,6	414	15,0	617	16,2	1480
14—16	17,4	159	19,6	159	14,4	196	21,2	522
17—19			18,8	74	21,8	132	16,0	256
20—22			12,6	110	18,8	65	17,6	120

dem 14. und 16. Lebenstag flogen bei 27—27,9° C und bei 29—30° C besonders lebhaft, während noch ältere Mücken eine maximale Flugreaktion zwischen 28 und 28,9° C zeigten. Am geringsten war die Aktivitätsänderung zwischen dem 11. und 13. Tag (Abb. 2).

Eine Erhöhung der Versuchsraumtemperatur steigerte nur geringfügig die Flugaktivität. Dagegen nimmt die Zahl der Anflüge auf die warm-feuchte Trichteröffnung mit dem Anwachsen der Temperaturdifferenz zwischen der einströmenden, wärmeren Luft und der Raumluft zu. Die Strömungsgeschwindigkeit ist bei diesen wie den folgenden Versuchen unverändert geblieben. Die Differenz muß größer als 1,0° C auf 7,5 cm sein, um eine Anflugsteigerung zu bewirken (Abb. 3), d. h. der Gradient muß mehr als 0,15°/cm betragen.

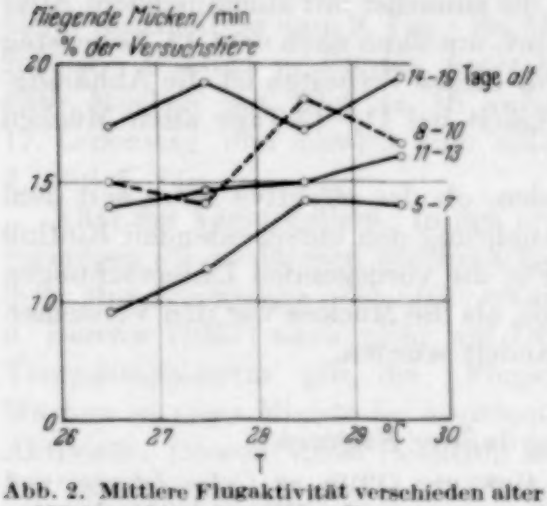


Abb. 2. Mittlere Flugaktivität verschieden alter Mücken abhängig von der Versuchsraumtemperatur

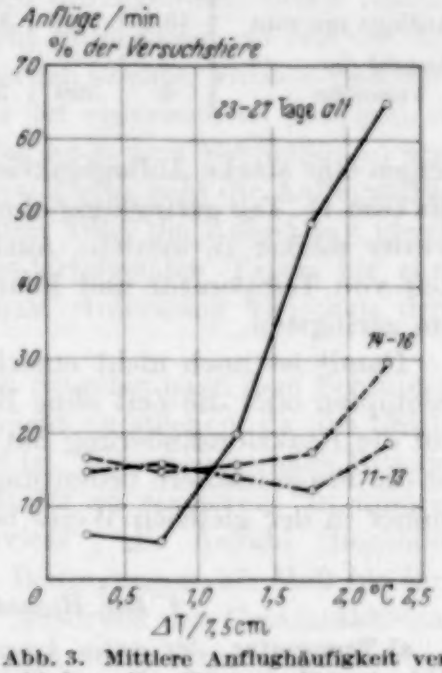


Abb. 3. Mittlere Anflughäufigkeit verschieden alter Mücken abhängig vom Temperaturanstieg

b) Luftfeuchtigkeit. Den Einfluß der Oberflächenfeuchtigkeit des Wirtes für die Orientierung fand CRUMB (1922) bei *Culex pipiens*. MARTINI u. TEUBNER (1933) haben für verschiedene Mückenarten die Einflüsse der Feuchtigkeit und der Wärme auf die Lebensdauer und die Vorzugswahl untersucht und aus diesen Ergebnissen auf die Wirtsorientierung geschlossen. Sie konnten dabei für *Aëdes*-Arten eine Abhängigkeit der Stechaktivität von der Luftfeuchtigkeit wahrscheinlich machen. Anderen Autoren gelang es, die verstärkte Anflughäufigkeit auf eine zusätzliche angefeuchtete Körperfläche in einem Wärmegefälle nachzuweisen. BROWN (1951) hat im Freiland die Anlockung eines erwärmten Behälters von Körpertemperatur und -gestalt durch feuchte Tücher bedeutend erhöht.

Tabelle 5. *Mittlere Flugaktivität in Prozent der verwendeten Tiere bei verschiedenen relativen Versuchsraumfeuchtigkeiten*

	Relative Feuchtigkeit (% rel. F.)				
	40—49	50—59	60—69	70—79	80—89
Fliegende Tiere pro min in %	16,0	15,0	14,2	13,4	16,2

Nun haben eigene Untersuchungen ergeben, daß der Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit im Versuchsraum auf die Flugaktivität der Mücken gering ist (Tabelle 5). Es ist daher anzunehmen, daß der Feuchtigkeitsgrad im untersuchten Bereich selbst nur wenig Einfluß auf die

Tabelle 6. *Mittlere Anflughäufigkeit in Prozent der verwendeten Tiere bei einem positiven Feuchtigkeitsgefälle über 7,5 cm zur Einströmöffnung bei gleichbleibendem Temperaturabfall*

Differenz der relativen Feuchtigkeit in % rel. F.	Alter in Tagen					
	4—7		8—16		17—31	
	Anflüge pro 3 min in % des Gesamten	n	Anflüge pro 3 min in % des Gesamten	n	Anflüge pro 3 min in % des Gesamten	n
6—10	0,0	9			21,6	31
11—15	0,0	10			4,2	31
16—20	26,4	44			84,0	31
21—25	28,8	8	30,0	2	69,3	27
26—30	26,4	6	31,0	2	88,5	30
31—35	12,0	12	42,1	27	78,0	17
36—40	63,0	29	35,4	50	124,2	37
41—45	26,7	65	46,0	136	111,0	44
46—50	33,9	16	45,8	82	42,8	17
51—55			38,7	39		
56—60			33,7	9	156,6	103
61—65						

Versuchstiere hat. Dagegen verändert sich die Zahl der anfliegenden Mücken mit den Feuchtigkeitsunterschieden zwischen der Einströmöffnung und dem Versuchsraum erheblich, aber erst wenn sie an der Trichteröffnung um 15% höher liegt, und sie steigt mit wachsender

Differenz weiter an (Tabelle 6). Die Anflughäufigkeit nimmt allerdings im Bereich von 45—55% Feuchtigkeitsunterschied im Vergleich zu kleineren Differenzen ab, um bei größeren Unterschieden noch weiter anzusteigen (Abb. 4).

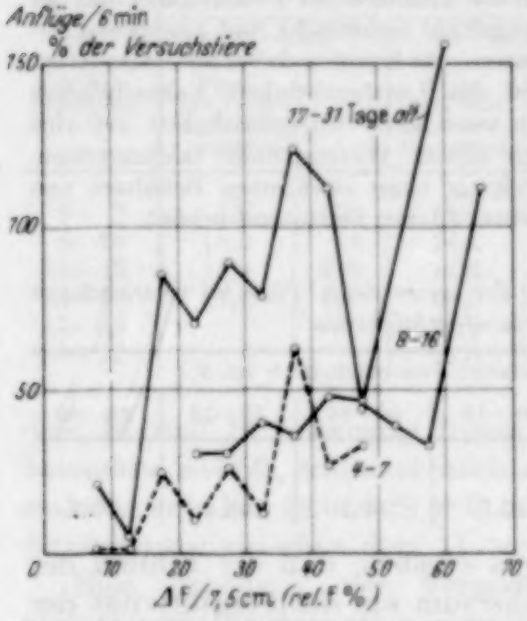


Abb. 4. Mittlere Anflughäufigkeit verschieden alter Mücken abhängig von einer positiven Feuchtigkeitsdifferenz über 7,5 cm zur Einströmöffnung

Da die relative Feuchtigkeit von der Temperatur abhängig ist, wird die Anflugreaktion der Mücken in doppelter Form durch die Temperatur bestimmt. Durch Calciumchlorid kann im Versuchsraum die Feuchtigkeit niedrig gehalten werden, so daß eine Abnahme der absoluten Feuchtigkeit von der Einströmöffnung zur Versuchsraummitte besteht. Bei einem zusätzlichen, starken Temperaturabfall in gleicher Richtung wird im Vergleich dazu die relative Luftfeuchtigkeit viel langsamer abnehmen, während bei kleinen Temperaturunterschieden der Abfall der relativen Feuchtigkeit annähernd mit dem absoluten Feuchtigkeitsgehalt parallel geht (Abb. 5a—b). Das Verhalten der Mücken wird beim Anflug zusammen von Temperatur und Feuchtigkeit so kompliziert beeinflußt

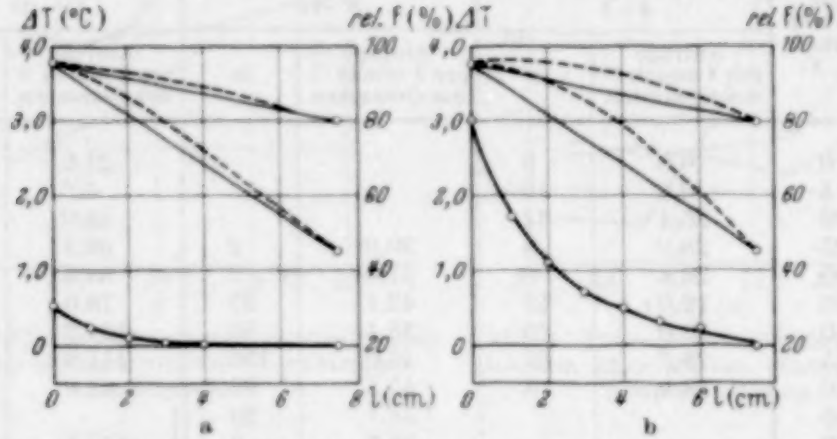


Abb. 5a u. b. Temperaturgefälle während eines Versuches über 7,5 cm und davon abhängig relative Feuchtigkeitsänderung. Unterbrochene Linie gibt den vermutlichen Feuchtigkeitsabfall unter Berücksichtigung der Temperaturänderung an

(Tabelle 7), daß die Abhängigkeit gleichzeitig von beiden Gradienten noch nicht vollkommen bestimmt werden konnte und es ließ sich auch zur absoluten Feuchtigkeitsänderung keine Beziehung der Anflüge fest-

Tabelle 7. *Mittlere Anflughäufigkeit in Prozent der verwendeten Tiere bei verschiedenen Feuchtigkeits- und Temperaturgefällen, in ° C auf 7,5 cm, bzw. Differenz in Prozent rel. F. bis auf 100% rel. F. an der Anflugfläche*

Feuchtigkeitsanstieg auf 100 % rel. F. in Prozent rel. F.	Temperaturanstieg in Grad Celsius											
	0,0—0,5		0,6—1,0		1,1—1,5		1,6—2,0		2,1—2,5		2,6—3,0	
	Anflüge pro min	n	Anflüge pro min	n	Anflüge pro min	n	Anflüge pro min	n	Anflüge pro min	n	Anflüge pro min	n
20—24					30,0	2	28,6	2	82,5	5		
25—29			49,0	1	31,0	2	35,0	2	43,5	4		
30—34			36,0	3	37,7	26	24,9	8	14,3	3	46,2	4
35—39			47,7	7	35,4	45	43,5	38	37,2	8	18,0	1
40—44	34,7	2	56,0	16	44,1	114	54,5	50	43,7	16	53,0	1
45—49			30,2	22	50,5	55	44,5	36	49,3	21	117,0	2
50—54			59,5	9	32,9	31	32,0	30	34,0	6	92,2	6
55—59			32,6	3	33,6	9	17,2	4	3,5	2		

stellen. Die mit der Feuchtigkeitsänderung zunehmenden Anflüge beim Temperaturanstieg von 1,1—1,5° C auf 7,5 cm konnten bei jüngeren und auch älteren Versuchstieren nachgewiesen werden (Abb. 6a), doch scheint die relative Feuchtigkeit das Anflugverhalten bei größeren Temperaturgradienten stärker zu beeinflussen. Da auch die Raumtemperatur auf das Verhalten der

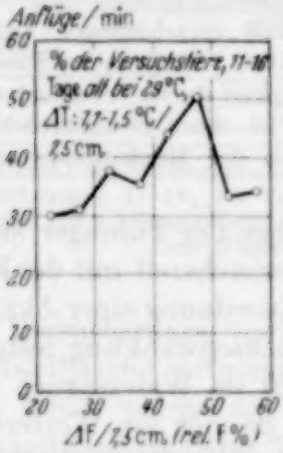


Abb. 6a. Mittlere Anflughäufigkeit in Prozent der verwendeten 11—16 Tage alten Tiere bei konstanter Temperatur und Temperaturanstieg abhängig von der Feuchtigkeitsdifferenz

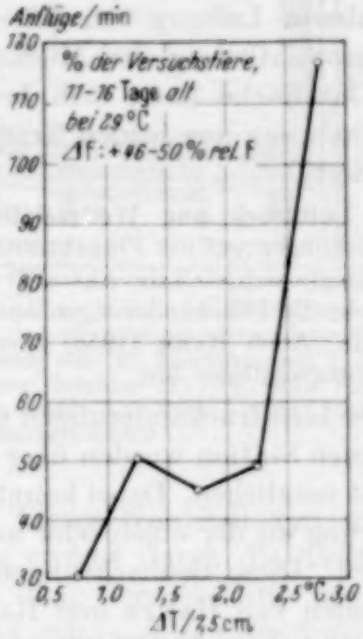


Abb. 6b. Mittlere Anflughäufigkeit in Prozent der verwendeten 11—16 Tage alten Tiere bei 29° C und 46—50 % rel. F. abhängig von der Temperaturdifferenz in ° C auf 7,5 cm

Mücke einwirkt, können Schwankungen der Meßwerte auch auf diesem Einfluß beruhen. Bei zunehmender Temperaturdifferenz wird besonders bei 11—16 Tage alten Versuchstieren die Anflugänderung in einem

Gefälle von 46—50% relativer Feuchtigkeit auf 7,5 cm deutlich (Abb. 6b). Diese Versuche wurden nur zur Kontrolle der Versuchsbedingungen durchgeführt und können daher die Beziehungen nicht in allen Einzelheiten ermitteln.

e) Luftströmung. BÄSSLER (1958) wies den Einfluß der Luftströmung auf die Orientierung von *Aëdes aegypti* und die Funktion des Johnstonschen Organs als Strömungs- und Schweresinnesorgan nach, in dem er eine Reaktionsänderung auf Kohlendioxyd nach Antennenamputation nicht allein wie WILLIS u. ROTH (1952) auf den Ausfall von Chemorezeptoren, sondern auch auf die Ausschaltung eines Strömungssinnesorgans und damit der Flugkontrolle zurückführen konnte. Nach den Arbeiten von KENNEDEY (1939) und BÄSSLER ändern sich die Fluggeschwindigkeiten der Mücken über dem Boden bis zu Windgeschwindigkeiten von 33 cm/sec nur unwesentlich, während die Tiere bei Strömungen über 120 cm/sec nicht mehr eine Relativgeschwindigkeit zum Boden aufrechterhalten können. VAN THIEL (1947) arbeitete bei seinen Untersuchungen an *Anopheles* bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 1,3 cm/sec, während WILLIS u. ROTH *Aëdes* noch bei Luftbewegungen von 14 cm/sec untersuchten.

Die Mücken stellen sich beim Flug stets gegen die Windrichtung ein. Daher sind die Anflüge auf eine feuchtwarme Gazefläche ohne Luftströmung wesentlich geringer als im Luftstrom.

Bei unseren Versuchen wurde ein gerade noch mit der Hand wahrnehmbarer Luftzug von 2,3—3,0 cm/sec verwendet, der für die Strömungsorientierung der Mücken ausreichte. Die Anflughäufigkeit auf die Gazefläche hatte sich bei kleinen Geschwindigkeitsunterschieden zwischen den aus beiden Trichtern ausströmenden Luft nicht merkbar geändert.

d) Luftdruck und Wettereinflüsse. Der Einfluß verschiedener Luftdruckschwankungen auf die Flugaktivität wurde von HAUFE (1954) nachgewiesen. Jedoch zeigte sich, daß die Aktivität und Anflughäufigkeit durch verschieden starke und schnelle Druckänderungen nur zu beeinflussen ist, wenn sie unnatürlich groß wurden. Auch RAHM (1958) wies auf Änderungen der Mückenreaktion durch Witterungseinflüsse hin.

Die Luftdruckänderungen nach den Angaben der Tübinger Meteorologischen Station wurden über eine längere Versuchszeit mit der Flugaktivität verglichen. Dabei konnte keine klare Zuordnung einer Aktivitätsänderung zu der einen oder anderen Luftdruckschwankung festgestellt werden. Diese Beobachtungen brauchen nicht im Widerspruch zu den Befunden von HAUFE und RAHM zu stehen, da sich ein Wettereinfluß durchaus einer Nachprüfbarkeit entziehen kann. Da diese Einflüsse jedoch geringfügig erschienen, wurden sie in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt. Sie mögen als größere Streuung der Mittelwerte bei den Ergebnissen in Erscheinung treten, ohne dadurch den Aussagewert der Experimente wesentlich zu beeinträchtigen.

e) Kohlendioxyd. Seit den Untersuchungen RUDOLFS (1922) war die Bedeutung des Kohlendioxyds für die Anlockung der Stechmücken bekannt. HEADLEE (1937) fing mit Lichtfallen mehr Mücken, wenn gleichzeitig Kohlendioxyd aus den

Fallen ausströmte. Diese Befunde wurden von mehreren Autoren bestätigt. 1953 gelang es REEVES bei Freilandversuchen Stechmücken in Fallen zu fangen, aus denen allein Kohlendioxyd ausströmte.

In unseren Laboratoriumsversuchen nahm die Zahl der Anflüge auf die warme und feuchte Fläche ab, nachdem das Kohlendioxyd mit Bariumhydroxyd aus der in den Versuchskäfig eingeblasenen Luft entfernt worden war. In einem weiteren Versuch wurde der Kohlendioxydgehalt der Versuchsraumluft erhöht, indem aus einer großen Vorratsflasche durch Wasser kontinuierlich ein kleines Volumen Kohlendioxyd

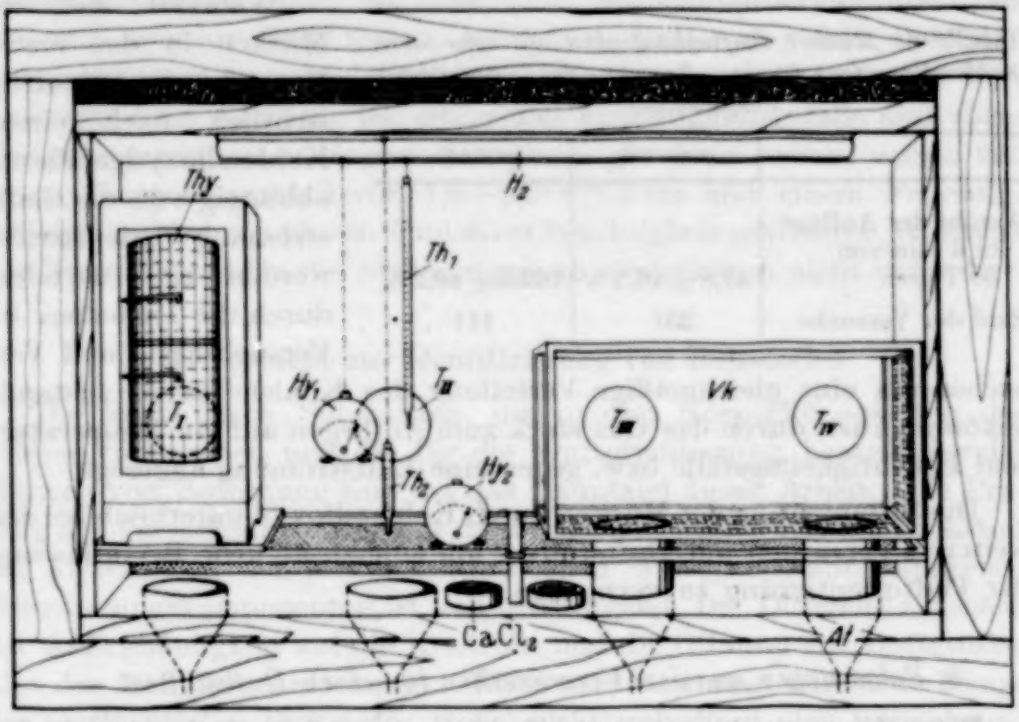


Abb. 7. Ansicht des Versuchsraums vom Experimentator aus: H_2 Zusatzheizung 2, T_{I-IV} Einströmöffnungen I—IV, *Vk* Versuchskäfig vor dem Trichter III—IV, *Thy* Thermohygrograph, *Hy 1,2* Hygrometer 1,2, *Th 1,2* Thermometer 1,2, $CaCl_2$ = $CaCl_2$-Schalen zur Wasserabsorption, *At* Absaugetrichter

in den Versuchsraum verdrängt wurde. Dieses Kohlendioxyd wurde einer Stahlflasche entnommen. Das Gas strömt durch die Trichteröffnung I ein, welche am weitesten von dem Versuchskäfig mit den Mücken entfernt ist (Abb. 7). Es vermischt sich rasch mit der durch die Öffnungen II, III und IV einströmenden Luft. Dabei erhöht sich der Kohlendioxydgehalt im Versuchsraum auf eine Konzentration, die geringer als 0,2 Vol.-% ist. Dies entspricht etwa dem Zehnfachen des normalen Kohlendioxydgehaltes der Luft und etwa $^1/_{20}$ der ausgeatmeten Luft. Mit einer erhöhten Flugaktivität zeigte sich auch ein vermehrter Anflug auf die feucht-warmen Luftströme aus den Öffnungen III und IV (Abb. 7). In den ersten 10 Versuchsminuten sammelten sich die Tiere

in der unteren Käfigecke, welche der Kohlendioxydquelle am nächsten war und zeigten dort sehr lebhafte Stech- und Suchbewegungen. Dann flogen die Tiere beide Trichteröffnungen gegen den Luftstrom gleichmäßig an. Ein ähnliches Verhalten ließ sich auch bei höheren Kohlendioxydkonzentrationen beobachten. Die Anflüge auf die Trichter III und IV wurden bei Kohlendioxyd-Zusatz im Versuchsraum mit der Anflughäufigkeit ohne Kohlendioxyd verglichen, wobei die ersten 10 Versuchsminuten unberücksichtigt blieben (Tabelle 8). Die Anflüge steigerten sich bei der Anwesenheit von Kohlendioxyd um das 3,5fache.

Tabelle 8. *Mittlere Anflughäufigkeit mit oder ohne Kohlendioxydzusatz in Prozent der verwendeten Versuchstiere*

	Ohne CO_2	Mit CO_2
Anzahl der Anflüge in 6 min von 50 Tieren . . .	$47{,}8 \pm 46{,}2\%$	$162{,}6 \pm 49{,}2\%$
Zahl der Versuche .	251	111

Während sich die Mücken in den ersten Versuchsminuten offensichtlich nach einem Kohlendioxydgefälle unabhängig von der Luftströmung orientierten, werden sie, nachdem durch die Turbulenz im Versuchskäfig und Versuchsraum eine gleichmäßige Verteilung des Kohlendioxyds zustande gekommen ist, durch das Gas stark zum Anfliegen auf ein Temperatur- und Feuchtigkeitsgefälle bzw. gegen eine Luftströmung angeregt.

Die Stimulierung der Mücken durch Kohlendioxyd unterblieb bei den weiteren Versuchen mit Duftstoffen, um eine zusätzliche Beeinflussung der Duftorientierung zu vermeiden.

3. Folgerungen aus den Vorversuchen für einen Duftstofftest

Diese Vorversuche zeigen, daß auch unter Laborbedingungen auf engem Raum die geprüften Faktoren Temperatur, Feuchtigkeit und ihre Gradienten sowie die Luftströmung für das gesamte Orientierungsverhalten der Stechmücken bei der Wirtssuche notwendig sind. Zusätzlich wirken noch Kohlendioxyd und Duftstoffe — im Freiland in größerer Entfernung vom Wirt — auf die Mücken. Ein bestimmtes Zusammenspiel der Faktoren, ihre Änderung und ihre räumlich oder zeitlich verschiedene Einwirkung auf die anfliegende Mücke ermöglichen ihr die Wirtsorientierung. Die eigentliche Schwierigkeit für die Entwicklung einer Untersuchungsmethode zur Bestimmung von Duftstoffen besteht in einer Reproduktion dieses Zusammenspiels im Laboratorium. Es ergaben sich dabei für die günstigste Kombination der untersuchten Komponenten und des besten Alters nachfolgende Werte.

Die Anflughäufigkeit ist bei Mücken bis zu 10 Tagen und bei Tieren, die älter als 17 Tage sind, besonders schwankend. Sehr gleichmäßig

reagieren Mücken zwischen dem 11. und 16. Lebenstag auf Temperaturänderungen und Feuchtigkeitsanstieg. Die 11—14 Tage alten Versuchstiere waren in Gruppen zusammengefaßt, die einen maximalen Altersunterschied von 2 Tagen hatten. Er dürfte nach der fast 2wöchentlichen Haltung der Imagines unter gleichen Bedingungen kaum von Bedeutung sein. Die optimale Flugaktivität und Anflugreaktion der Mücken erfolgt bei Versuchsraumtemperaturen zwischen 27 und 29° C. Es wurde daher bei einer mittleren Versuchsraumtemperatur von 29° C und bei einer relativen Feuchtigkeit von 50—60% gearbeitet. Dabei mußte der Feuchtigkeitsunterschied für eine gute Anflugorientierung mehr als 16—20% relative Feuchtigkeit auf 7,5 cm Entfernung und die Temperaturdifferenz mehr als 1,0° C auf 7,5 cm betragen. Da es in der Versuchsapparatur schwierig ist, ein großes Feuchtigkeitsgefälle und einen Temperaturgradienten längere Zeit genau gleich zu halten, wurde mit einem Temperaturabfall von 1,0—2,0° C/7,5 cm und einem Feuchtigkeitsunterschied von 40—50% relativer Feuchtigkeit gearbeitet. Während der Versuche wurden die Strömungsgeschwindigkeiten nicht verändert.

II. Versuche zur Identifizierung von Duftstoffen

Die Suche nach Substanzen, die in den Körperflüssigkeiten des Wirtes vorkommen und die für die Duftorientierung beutesuchender Mücken von Bedeutung sind, ist das Hauptziel dieser Arbeit. Die Prüfung der Versuchsapparatur mit defibriniertem Rinderblut als Lockstoff bei Anwesenheit der in der beschriebenen Weise konstant gehaltenen Orientierungskomponenten ist voll befriedigend. Die Differenz zwischen der Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und die Öffnung mit Duftstoffen gibt das Maß der „Anlockung". Diese wird bestimmt durch die Menge der verflüchtigten Duftstoffe, wobei nicht unbedingt eine Vermehrung der Duftstoffkonzentration eine stärkere Reaktion bewirken muß. Von den zu prüfenden Substanzen wurden verschiedene Verdünnungsstufen wiederholt mit neuen Gruppen von Versuchstieren getestet. Erst die so gewonnenen Ergebnisse lassen einen Schluß auf die Wirkung der betreffenden Stoffe zu.

Alle bisherigen Untersuchungen scheinen von der Voraussetzung bestimmt gewesen zu sein, daß sich die Mücken in einem Duftgefälle zum Wirt orientieren. Diese Annahme erscheint fraglich. So ist z. B. für die Sexuallockstoffe der Schmetterlinge eine Aktivierung der Männchen durch den Duft und eine Orientierung in der Luftströmung von Schwinck (1954) und D. Schneider (1957) sehr wahrscheinlich gemacht worden. Die Mücken könnten ebenso, im Versuchsraum durch den Duftstoff lediglich aktiviert, sich, wie auf S. 196 beschrieben, gegen die Luftströmung einstellen und so entgegen dem Feuchtigkeits- und Temperaturgefälle die Trichteröffnung anfliegen. Diese Orientierung wäre vollkommen von der Kohlendioxydorientierung verschieden, bei der eine Ansammlung der Tiere an der Stelle höchster Kohlendioxydkonzentration beobachtet wurde (s. S. 198). Die

Untersuchung der Frage einer Duftgefällewirkung konnte selbstverständlich erst nach Bestimmung eines Duftstoffes durchgeführt werden. Diese Versuche werden weiter unten beschrieben und diskutiert.

1. Versuche mit Körperflüssigkeiten

Als Ausgangssubstanzen für die Untersuchung der im Wirt vorkommenden Duftstoffe wurden Rinderblut, Pferde- und Menschenschweiß und schließlich Harn verwendet.

a) Blut. In Versuchen im Sommer 1956 konnte die positive Reaktion von Mücken auf defibriniertes Rinderblut und auf Blut nachgewiesen werden, welches mit Natriumcitrat und Kaliumoxalat gerinnungsfrei gemacht wurde. Rinderblutserum erwies sich als wirksam. Das Serum wurde zunächst in einer Vakuumdestillation fraktioniert. Eine bei 26° C und 14 Torr abgetrennte Fraktion ist noch in einer 1%igen wäßrigen Lösung mit 58,5% der gesamten Anflüge auf der Duftseite im Olfaktometer positiv. Allerdings wirkt auch der Rückstand der Destillation schwach positiv, ein Befund, auf den weiter unten noch näher einzugehen ist.

Damit wurden die Versuche von SCHAERFFENBERG u. KUPKA (1951) bestätigt. Später fanden auch BURGES u. BROWN (1957), daß Blutserum eine anlockende Komponente enthält, die nicht an die Blutplättchen gebunden ist, sondern beim Zentrifugieren im Serum zurückbleibt und 4—5mal stärker Mücken anzieht als Wasser. Ein Vakuumdestillat aus Serum war 1,49—2,31mal stärker anlockend als destilliertes Wasser. Die wirksamen Substanzen im Destillat sind weder Salze, noch Aminosäuren, noch Proteine, da diese im Rückstand bleiben. Darauf weisen auch SCHAERFFENBERG u. KUPKA (1951) hin. Nach den Ergebnissen war zu erwarten, daß der gesuchte „destillierbare Duftstoff" — es können auch mehrere Duftstoffe sein — zu anderen Stoffklassen gehört. Die Vakuumdestillation schließt aus, daß die Anziehung der Stechmücken von dem im Blut vorhandenen Kohlendioxyd stammt. Wegen der schwachen Lockwirkung des Rückstandes, der von nicht destillierbaren oder nur zum Teil flüchtigen Substanzen herrührt, scheint es sinnvoll, 2 Gruppen von Lockstoffen zu unterscheiden, die durch Vakuumdestillation getrennt werden können. Das Schwergewicht der Untersuchungen lag bei der Duftstoffsuche auf den mit der Destillation flüchtigen Verbindungen.

b) Schweiß und Kunstschweiß. Versuche mit Schweiß von Pferden und Menschen, der mit Watte unter den Achseln gesammelt wurde, zeigte eine deutlich positive Wirkung auf die Mücken im Olfaktometerversuch.

Versuchsdurchführung. Reine Substanzen und Fraktionen von Körperflüssigkeiten wurden im Olfaktometer nach der beschriebenen Methode auf ihre Lock-

wirkung untersucht, in dem der Art der Fraktion oder Verbindung entsprechend ein Luftstrom entweder durch 25 cm³ wäßriger Lösung in einer Waschflasche perlte oder über ein Filterpapier mit 5 cm³ Ätherextrakt strich. Das Lösungsmittel verdampfte vor dem Versuch auf einer Heizplatte von höchstens 45° C. Die Luft wurde vor ihrem Einströmen in den Versuchsraum bei den Filterpapierproben und der Kontrolle durch eine mit Aqua dest. gefüllte Waschflasche geleitet. Kontrollversuche mit reinen Lösungsmitteln ergaben keine Anlockung der Mücken durch Äther, Azeton oder Alkohol, vielmehr zeigten Äther und Azeton deutliche abschreckende Wirkungen.

Rechnerische Versuchsauswertung. Für die rechnerische Auswertung wird jeweils die Summe der Anflüge auf die Kontrolle bzw. auf die Testfläche in 3 je 1 min dauernden Versuchen (K, T) festgestellt. Diese Werte sind nicht in Prozent der im Versuch verwendeten Tiere umgerechnet, sondern in Prozent der gesamten Anflughäufigkeit auf Kontrolle und Testseite ($K + T = 100\%$). Als Maß für die Anflugstärke auf der Duftseite wird der Quotient $\frac{T}{K+T}$ angegeben. Einer Bevorzugung der Duftseite entspricht ein Wert größer als 50%.

Statistische Sicherung der Versuchsergebnisse. Die Versuchsergebnisse weisen eine erhebliche Streuung auf. Die „Student-Verteilung" ermöglicht es jedoch, einen gesicherten Unterschied zwischen den Anflügen auf den dufthaltigen Luftstrom und den Kontrollstrom hinreichend zu schätzen. Die Berechnung erfolgt nach der bei Linder (1951) angegebenen vereinfachten Formel für die Student-Verteilung (t) bei gleicher Anzahl von Versuchen und Kontrollen.

Nach der in Hoppe-Seyler u. Thierfelder (1955)und Flaschenträger-Lehnartz (1954) beschriebenen Zusammensetzung des menschlichen Schweißes wurde eine Mischung der essentiellen Aminosäuren und der wichtigsten Fettsäuren (Tabelle 9) in wechselnder Konzentra-

Tabelle 9. *Zusammensetzung des Kunstschweißes in Volumen- und Gewichtsprozenten*

Milchsäure	4 vol-%ig	Arginin	$30 \cdot 10^{-2}$ mg
Ameisensäure	4 vol-%ig	Glutaminsäure	$132 \cdot 10^{-2}$ mg
Citronensäure	4 vol-%ig	Asparaginsäure	$116 \cdot 10^{-2}$ mg
Essigsäure	2 vol-%ig	Leucin	$30 \cdot 10^{-2}$ mg
Propionsäure	4 vol-%ig	Alanin	$40 \cdot 10^{-2}$ mg
Buttersäure	0,5 vol-%ig	Valin	$32 \cdot 10^{-2}$ mg
Caprylsäure	2 vol-%ig	Tyrosin	$32 \cdot 10^{-2}$ mg
Capronsäure	2 vol-%ig	Serin	$60 \cdot 10^{-2}$ mg
Capronsäure	0,5 vol-%ig	Glykokoll	$50 \cdot 10^{-2}$ mg
Harnsäure	4 gew-%ig	Harnstoff	0,04 gew-%ig
Glucose	4 gew-%ig	Ammoniaklösung	4 vol-%ig

tion und Zusammensetzung im Frühjahr 1957 geprüft. Eine 30%ige bis 5%ige wäßrige Verdünnung der Ausgangsmischung zeigte keine gesicherte Bevorzugung vor der Kontrolle. Dagegen war eine solche bei einer 3%igen Lösung mit der notwendigen Sicherheit nachzuweisen (Tabelle 10). Diesem Ergebnis wurde zunächst keine Bedeutung zugemessen, da von einer stärkeren Duftkonzentration auch eine stärkere Wirkung auf die Mücken erwartet wurde. Erst die Ergebnisse mit Phenolderivaten und die Untersuchungen in der Versuchsapparatur zeigten, daß durch

Tabelle 10. *Wirkung von Kunstschweiß-Lösungen auf die mittlere Anflughäufigkeit in Prozent der Gesamtanflüge eines Versuches*

Verwendete Verdünnungsstufe %	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student Abweichung t	Freiheitsgrade f
30	13	52,5	± 21,5	+ 5,0	0,66	12
19	6	49,9	± 28,5	− 0,2	0,00	5
5	11	50,3	± 28,7	+ 0,6	0,05	10
3	40	60,0	± 19,3	+ 20,0	4,46	39
2	5	59,0	± 13,5	+ 18,0	2,09	4
1	6	60,5	± 17,2	+ 21,0	2,63	5

eine erhöhte Duftkonzentration im Versuchsraum auch die Anflughäufigkeit auf die Kontrollseite gegen eine Luftströmung und ein Feuchtigkeits- und Temperaturgefälle zunimmt. Weiterhin konnte erst später die hohe Empfindlichkeit der Mücken auf sehr geringe Duftmengen nachgewiesen werden.

α) Aminosäuren. Auf Grund einer Mitteilung von SCHAERFFENBERG u. KUPKA (1959), die während der Niederschrift dieser Arbeit erschien, nach der verschiedene Aminosäuren auf die Mücken als Lockstoffe wirken, wurden nach Abschluß der Untersuchungen über die bei einer Destillation flüchtigen Duftstoffe auch reine Aminosäuren untersucht.

Es war notwendig auch sehr geringe Konzentrationen verschiedener Aminosäuren im Olfaktometer zu prüfen, da andere Duftstoffe erst bei kleinen Konzentrationen positive Ergebnisse zeigten und so die Versuche mit aminosäurehaltigen Kunstschweißlösungen sinnvoll ergänzt wurden. Die Aminosäuren sind zum Teil einzeln oder in Mischungen wäßriger Lösungen wie die übrigen reinen Substanzen in Aqua bidest. untersucht worden (Tabelle 11).

Eine Mischung der 4 aliphatischen Aminosäuren *Glykokoll* (30,5 γ), *d,l-Alanin* (30,0 γ), *d,l-Valin* (24,0 γ) und *l(—)-Leucin* (22,5 γ) war nicht anlockend. Das auf 1:100 verdünnte Gemisch zeigt eine schwache, jedoch nicht genügend von der Kontrolle zu sichernde Anlockung. *d,l-Methionin* wurde gesondert in einer wäßrigen Lösung untersucht. Sowohl die 22-γ-Substanz, die zur besseren Verdunstung mit 1 cm³ bidestilliertem Wasser auf Filtrierpapier aufgetragen wurden, als auch $2{,}2 \cdot 10^{-1}$-γ-Substanz zeigten keine gesicherte Anlockung. Die Diaminomonocarbonsäure *d,l-Lysin* (26,2 γ) und *l-Arginin* (220 γ) wurden zusammen untersucht. Diese Mischung zeigte keine Wirkung. Eine Verdünnung auf 10^{-2} brachte eine erhöhte Lockwirkung, die sich jedoch nicht gegen die Kontrolle absichern ließ. Eine Prüfung noch stärker verdünnter Lösungen müßte hier eine Klärung bringen.

Tabelle 11. *Wirkung verschiedener Aminosäuren und Aminosäuregemische auf die mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge*

Aufgetragene Substanzmenge in γ		Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
Methionin	22	8	48,2	± 17,2	− 4,0	0,45	7
	22 · 10^{-2}	11	53,8	± 34,8	+ 7,6	0,69	10
Glykokoll Alanin	30,5 30,0	20	53,0	± 17,5	+ 6,0	0,96	19
Valin Leucin	24,0 22,5 · 10^{-2}	16	54,6	± 12,0	+ 9,2	2,15	15
Lysin Arginin	26,2 220	12	56,1	± 38,0	+ 12,2	0,9	11
	26,2 · 10^{-2} 220 · 10^{-2}	10	63,3	± 17,6	+ 26,6	2,65	9

Diesen 7 Aminosäuren ohne oder nur mit einer zweifelhaften Wirkung stehen weitere 7 bisher untersuchte Aminosäuren mit einer deutlichen,

Tabelle 12. *Wirkung verschiedener Aminosäuren und Aminosäuregemische auf die mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge*

Aufgetragene Substanzmenge in γ		Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
Tyrosin	24	20	39,8	± 18,2	+ 19,6	3,1	19
	24 · 10^{-2}	10	63,6	± 17,6	+ 27,2	3,25	9
Asparaginsäure Glutaminsäure	87 99	20	52,0	± 13,0	+ 4,0	0,96	19
	87 · 10^{-2} 99 · 10^{-2}	12	70,6	± 10,9	+ 41,2	4,32	11
Serin Threonin	450 32,9	12	68,0	± 15,9	+ 36,0	5,68	11
	450 · 10^{-2} 32 · 10^{-2}	10	69,7	± 11,9	+ 39,4	7,26	9
Prolin Histidin	27,5 19,8	12	65,5	± 14,5	+ 31,0	4,88	11
	27,5 · 10^{-2} 19,8 · 10^{-2}	12	68,5	± 15,1	+ 37,0	6,06	11

positiven Lockwirkung gegenüber (Tabelle 12). *l(—)-Tyrosin* wurde in Konzentrationen von 24,0 γ/cm³ und 2,4 · 10^{-1} γ/cm³ in wäßriger Lösung

untersucht. Mit beiden Konzentrationen war eine positive Wirkung zu erzielen, die statistisch gesichert werden konnte. Als Gemisch wurden die Dicarbonmonoaminosäure *l*(—)-*Asparaginsäure* (87,0 γ) und *l*(+)-*Glutaminsäure* (99,0 γ); die Oxyaminosäuren *d,l-Serin* (450 γ) und *d,l-Threonin* (32,9 γ) und die heterocyclischen Aminosäuren *l*(—)-*Prolin* (27,5 γ) und *l*(—)-Histidin (19,8 γ) geprüft. In dieser Konzentration konnte zwar bei den Dicarbonmonoaminosäuren keine Lockwirkung festgestellt werden, jedoch brachte eine Verdünnung auf 10^{-2} der Ausgangslösung eine sichere Bevorzugung der Duftseite. Die übrigen 4 Aminosäuren sind in 2 Gruppen und je 2 Konzentrationsstufen geprüft worden und waren stets stark wirksam.

Diese Befunde bestätigen zum Teil die von Schaerffenberg u. Kupka beobachteten Duftwirkungen, da einige Aminosäuren, vor allem das Phenolderivat *Tyrosin*, positiv wirkten, während die aliphatischen Aminosäuren und Diaminomonocarbon in den untersuchten Konzentrationen wirkungslos waren. Es erscheint möglich, daß die Konstitution der Aminosäuren für die Lockwirkung entscheidend ist und nicht ein Mischgeruch aus mehreren Stoffen. Es darf erwartet werden, daß auch einzelne Komponenten der Mischungen ihrem chemischen Aufbau entsprechend wirksam oder unwirksam sind. Die Aminosäuren, als ätherunlösliche und schlecht flüchtige Verbindungen, müßten vorzugsweise im wäßrigen Hydrolyserückstand des Ätherextraktes von Blut und Urin enthalten sein, und wegen ihres amphotheren Salzcharakters könnte man ihnen die Duftwirkung des Destillationsrückstandes zuschreiben. Hierauf beruht wohl die schwache Duftwirkung des Rückstandes der Serumdestillation (s. S. 200) mit 52,2% der Anflüge auf der Testseite.

Tabelle 13. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Ammoniumhydroxyd-Verdünnungsstufen*

Verwendete Verdünnungsstufen %	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
0,1	5	55,8	± 14,4	+ 11,6	1,18	4
0,07	4	34,8	± 13,5	— 30,4	3,24	3
0,05	12	50,1	± 17,5	+ 0,2	0,007	11
0,01	13	53,3	± 19,1	+ 6,6	0,74	12

ß) Ammoniak und Glucose. Entgegen den Untersuchungen von Schaerffenberg u. Kupka (1959) mit *Anopheles maculipennis* und *Culex pipiens* konnte in unserem Olfaktometer bei *Aëdes aegypti* keine deutliche und statistisch zu sichernde Wirkung durch verschiedene Ammoniumhydroxyd-Konzentrationen festgestellt werden (Tabelle 13). Für die Prüfung wurde durch jeweils 25 cm³ der wäßrigen Lösung ein

Luftstrom geschickt. Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen von Brown u. Mitarb. (1951) ebenfalls an *Aëdes aegypti*, steht aber den alten Beobachtungen von Rudolfs, nach dem *Aëdes sollicitans* und *A. cantator* durch Ammoniaklösung angelockt wird, entgegen.

Unwirksam war — wie zuvor auch Schaerffenberg u. Kupka (1951) feststellten — eine 1%ige Glucoselösung.

e) Harn. Die meisten der nun zur Diskussion stehenden Substanzen des Schweißes und des Blutes kommen auch im Harn vor. Da dieser leicht in großen Mengen zu beschaffen und eine Verarbeitung und Zusammensetzung einfach ist, war es naheliegend, auch seine Wirkung auf die Mücken zu prüfen.

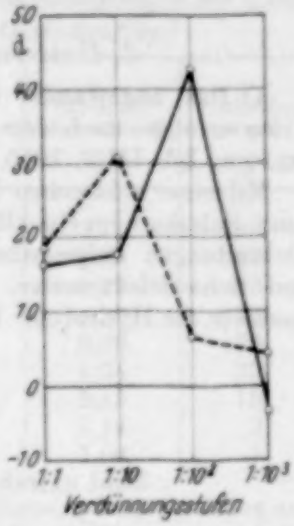


Abb. 8. Wirkung verschiedener Verdünnungsstufen von männlichem und weiblichem Harn auf die Anflughäufigkeit. Aufgetragen ist die Differenz zwischen den Anflügen auf Duft- und Kontrollseite. Gestrichelte Linie: ♀-Harn; durchgezogene Linie: ♂-Harn

Die Untersuchung des Urins erfolgte in Wahlversuchen mit Tagesharn von Männern sowie Schwangeren. Der Urin erwärmte sich in der Versuchseinrichtung auf 37° C. Die Werte wurden in Prozent der jeweiligen Gesamtreaktion berechnet und über mehrere Versuche gemittelt. Die Differenz zwischen dem Test und der Kontrolle wurde in einer Kurve über den verschiedenen, geprüften Verdünnungsstufen aufgetragen (Abb. 8). Bei einer Verdünnung $1:10^3$ in Wasser hört die anlockende Wirkung von Männerharn auf, während Schwangerenharn auch bei dieser Verdünnungsstufe eine positive Reaktion der Mücken hervorruft.

Mit der Vakuumdestillation konnte aus dem Urin eine wirksame Fraktion abgetrennt werden. Jedoch behielt auch der Rückstand stets eine schwache Lockwirkung für die Mücken. Selbst nach dem Trocknen des Destillationsrückstandes ließ sich mit Methanol eine Substanz herauslösen, die nach Abdampfen des Lösungsmittels und Aufnehmen in Wasser die Tiere in gleicher Weise positiv beeinflußte (Tabelle 14). Da die Bestandteile des Harns durch seine Erwärmung bei der Vakuumdestillation oxydiert und gespalten werden können, und die im Destillat

Tabelle 14. *Anflughäufigkeit auf methanollöslichen und unlöslichen Vakuumdestillationsrückstand von Urin*

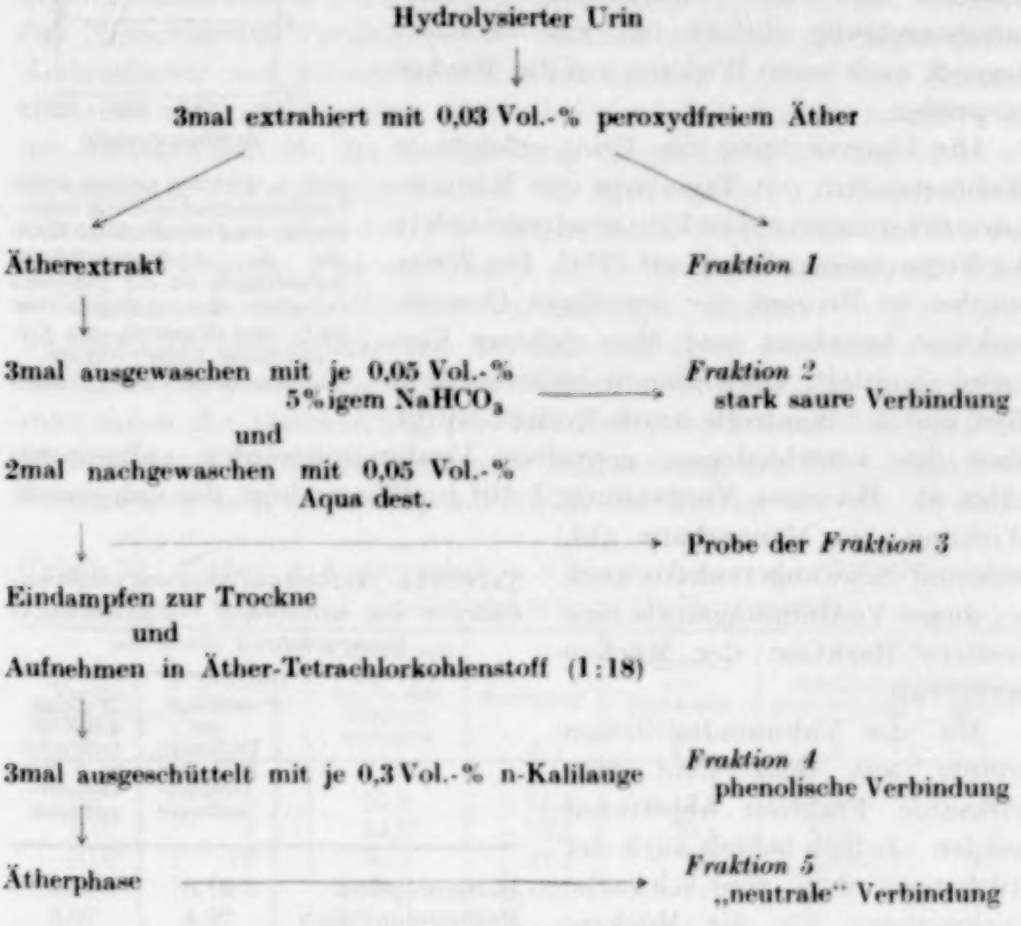
	Anflüge auf Duftseite in % des Gesamtanfluges	Anflüge auf Kontrollseite in % des Gesamtanfluges
Methanolgelöst	61,6	38,4
Methanolunlöslich	29,4	70,6

gefundenen Substanzen nicht unbedingt mit denen der Ausgangssubstanz identisch sind, ist ein chemisches Trennungsverfahren günstiger, da dort die chemischen Veränderungen bekannt sind.

2. Untersuchung verschiedener Urinfraktionen

a) Das angewandte chemische Trennungsverfahren. Die Auftrennung des Urins erfolgte nach dem üblichen Trennungsverfahren (HOPPE-SEYLER u. THIERFELDER, Bd. III/2, 1955, S. 1585).

Mit einer schwachen Hydrolyse durch 30 min langes Kochen mit 0,15 Vol.-% konz. Salzsäure im Rückflußkühler wurden die im Urin enthaltenen wasserlöslichen Verbindungen aufgespalten. Hierzu gehören z. B. Glucuronsäure-Verbindungen und Schwefelsäureester. Abkühlen im Eisbad und Verdünnen mit Eiswasser beendete die Hydrolyse. Der so behandelte Urin wurde entsprechend dem Schema



Schema. Fraktionierung des Urins

mit Äther extrahiert und die dunkelbraunrote Ätherphase abgetrennt. Eine Probe des Extraktes wurde vor dem vorsichtigen Eindampfen auf dem Wasserbad zu einem braunen Rückstand abgetrennt[1].

[1] Der Firma Thomae (Biberach) möchte ich an dieser Stelle für ihre großzügige Unterstützung mit Geräten und Chemikalien danken.

Die gewonnenen 4 Fraktionen und die Probe der im Trennungsgang weiter aufgearbeiteten Fraktion 3 wurden mit den jeweils entsprechenden Lösungsmitteln

Tabelle 15. *Mittlere Anflughäufigkeit auf verschiedene Verdünnungsstufen der Urinfraktion 4 innerhalb von 3 min in Prozent der Gesamtanflüge*[1]

Verwendete Verdünnungsstufen	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
10:1	40	49,5	± 21,5	— 1,0	0,11	39
1:1	42	63,0	± 21,4	+ 26,0	1,53	41
1:10	40	58,5	± 12,8	+ 17,0	5,37	39
$1:10^2$	40	60,7	± 17,2	+ 21,4	4,05	39
$1:10^3$	40	62,5	± 14,5	+ 25,0	6,09	39
$1:10^4$	40	53,0	± 16,6	+ 6,0	1,34	39
$1:10^5$	20	61,5	± 16,6	+ 23,0	3,15	19
$1:10^6$	4	58,6	± 2,8	+ 17,2	5,14	3
$1:10^7$	8	64,9	± 17,7	+ 29,7	7,06	7

[1] Aus 909 Vorversuchen zur Bestimmung der gleichmäßigen Anflugverteilung auf die beiden Trichteröffnungen ergab sich eine unerhebliche Abweichung von 0,017%.

auf die Konzentration des Ausgangsurins verdünnt und so im Wahlversuch den Mücken geboten. Der wäßrige Rückstand besteht aus den ätherunlöslichen Verbindungen. Alle in den übrigen Fraktionen vorhandenen Substanzen sind ätherlöslich. Von diesen enthält die dunkelbraune Fraktion 2 die stark sauer reagierenden Stoffe, z. B. die Carbonsäuren. Mit der gelbbraunen, wäßrig-alkalischen Fraktion 4 werden nur die noch schwach sauren Verbindungen aus dem Äther ausgeschüttelt, die im wesentlichen die phenolischen Verbindungen wie die Diphenole und die Oestrogene enthält. Im Äther bleiben die „neutralen" Verbindungen zurück.

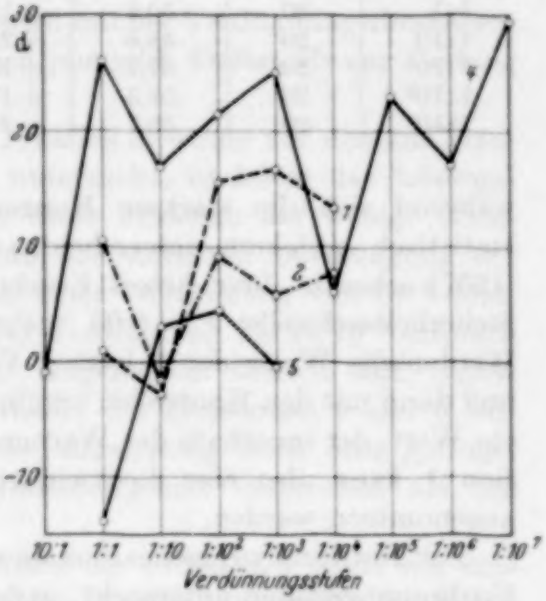


Abb. 9. Differenz der mittleren Anflughäufigkeit zwischen Duft- und Kontrollseite in Prozent der Gesamtanflüge bei verschiedenen Urinfraktionen und ihren Verdünnungen
1—5 Fraktionen

b) Ergebnisse. Beim wäßrig-alkalischen Auszug des Ätherextraktes, *Fraktion 4*, wurden alle Verdünnungsstufen bis zu $1:10^7$, außer der 10fachen Konzentration des Ausgangsurins, deutlich häufiger angeflogen als die Kontrolle (Tabelle 15, Abb. 9). Bis auf die Verdünnungsstufen 10:1 und 1:1 sind alle mit 99,9% Sicherheit von der Kontrolle unterschieden. Nur der Verdünnungsgrad $1:10^4$ erreicht diese Sicherheitsgrenze

nicht. Der Gehalt dieser Fraktion an wirksamen Substanzen muß, verglichen mit den übrigen Trennungsstufen, beträchtlich sein, da die Fraktion in sehr starker Verdünnung ihre Wirkung nicht einbüßt.

Eine weitere Bestimmung der Duftstoffe wird sich demnach vor allem mit den Inhaltsstoffen der Fraktion 4 befassen, zu denen nach ZIMMERMANN (1955) Diphenole und Oestrogene gehören. Auf Grund der bisherigen Versuche kann noch nicht entschieden werden, ob die im wäßrigen Rückstand des ätherextrahierten Urins wahrscheinlich vorhandenen Duftstoffe mit denen der Fraktion 4 identisch sind oder zu den Aminosäuren gehören.

Die wäßrige *Fraktion 1* wurde in verschiedenen Konzentrationen geprüft, jedoch gaben nur Verdünnungen von $1:10^2$ bis $1:10^4$ in 20 Wiederholungsversuchen eine deutliche Bevorzugung des Duftstromes und bei $1:10^3$ (Tabelle 16) eine statistisch wahrscheinliche Sicherung,

Tabelle 16. *Mittlere Anflughäufigkeit auf verschiedene Verdünnungsstufen der Urinfraktion 1 innerhalb von 3 min in Prozent der Gesamtanflüge*

Verwendete Verdünnungsstufen	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
$1:1$	20	50,4	$\pm 12{,}5$	+ 0,8	0,22	19
$1:10$	20	48,6	$\pm 25{,}0$	− 2,8	0,32	19
$1:10^2$	20	57,7	$\pm 15{,}4$	+ 15,4	2,03	19
$1:10^3$	20	58,3	$\pm 17{,}7$	+ 16,6	3,75	19
$1:10^4$	20	56,7	$\pm 26{,}8$	+ 13,4	1,86	19

während sich die stärkere Konzentration nicht von der Kontrolle statistisch gesichert unterscheiden ließ (Abb. 9). BURGES u. BROWN (1957) sehen in ihrer Arbeit Ergebnisse, deren Student-Verteilung die Sicherheitsschwelle $P = 0{,}05$ nicht überschreitet als bestätigt an. Werden die Werte der 3 letzten Verdünnungsstufen zusammengefaßt und dann mit den Kontrollen verglichen, so ergibt sich für alle 3 Stufen ein Wert, der innerhalb der Warngrenze $P = 0{,}05$ liegt. Für die Fraktion 1 kann also eine Lockwirkung mit einiger Wahrscheinlichkeit angenommen werden.

Der Natriumhydrogencarbonatauszug, *Fraktion 2*, wurde in gleichen Verdünnungsstufen untersucht, wobei die Ausgangskonzentration einen größeren Anlockeffekt als der Hydrolyserückstand zeigte. Mit zunehmender Verdünnung nahm die Reaktion zunächst ab, um dann wieder anzusteigen. Die Bevorzugung der Duftseite gegenüber der Kontrolle ist jedoch so gering, daß von keiner abzusichernden „Anlockung" gesprochen werden kann (Tabelle 17). Nur die Verdünnung $1:10^4$ war geeignet eine Abgrenzung der Mittelwerte zuzulassen. Prüft man hier

Tabelle 17. *Mittlere Anflughäufigkeit auf verschiedene Verdünnungsstufen der Urinfraktion 2 innerhalb von 3 min in Prozent der Gesamtanflüge*

Verwendete Verdünnungsstufen	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1:1	20	55,2	± 11,1	+ 10,4	1,17	19
1:10	20	49,2	± 20,2	− 1,6	0,23	19
$1:10^2$	20	54,6	± 17,1	+ 9,2	1,76	19
$1:10^3$	20	53,0	± 17,8	+ 6,0	1,07	19
$1:10^4$	20	53,8	± 12,1	+ 7,6	2,13	19

wieder die 3 letzten Verdünnungsstufen gemeinsam statistisch, so besteht in diesem Fall kein sicherer Unterschied zwischen Kontroll- und Beobachtungsreihe. Es kann daher für die Fraktion 2 eine Lockwirkung nicht gesichert werden. Diese Fraktion enthält als einzige eine Natriumhydrogencarbonatlösung und dadurch auch freie Kohlensäure, so daß wenigstens ein Teil der auffallend starken, positiven Wirkung der Ausgangskonzentration und die Abnahme bei weiterer Verdünnung diesem Umstand zugesprochen werden könnte. Die verwendete Probe enthält etwa 0,12 g $NaHCO_3$ in 25 cm^3, deren frei werdendes CO_2 nicht mit Bariumhydroxyd entfernt wird, um nicht die Duftwirkung zu beeinflussen. Die Kohlendioxydwirkung wird mit der Verdünnung abnehmen, so daß bei kleineren Konzentrationen nur noch Duftstoffe zur Geltung kommen.

Eine Probe des Ätherextraktes, *Fraktion 3*, wurde vor dem im Trennungsgang notwendigen Trocknen untersucht, nachdem das Lösungsmittel entfernt war. Es liegen für diese Fraktion nur wenige orientierende Beobachtungen vor, so daß der stärkeren Bevorzugung der Kontrolle bei 10^{-2} und der erst bei einer Verdünnung von 10^{-3} deutliche positive Effekt, der bei weiterer Verdünnung bis zu 10^{-6} schwach abnimmt, kein zu großes Gewicht beigemessen werden darf. Allerdings muß man der Fraktion 3, in der die Fraktionen 4 und 5 enthalten sind, wegen der deutlichen Duftwirkung noch sehr geringer Konzentrationen einen größeren Duftstoffgehalt zusprechen als den Fraktionen 1 und 2.

Der scharlach- bis dunkelrote Äther der *Fraktion 5* zeigte nur eine schwache Bevorzugung bei den beiden Verdünnungsstufen 1:10 und $1:10^2$ (Tabelle 18). Höhere und niedrigere Konzentrationen erzielten im Mittel eine geringere Anflughäufigkeit als die Kontrolle, doch ist kein Wert statistisch abzusichern. Diese geringe Wirkung kann nicht auf einer Störwirkung des Äthers beruhen, da die in gleicher Weise geprüfte Fraktion 3 eine positive Wirkung hat, die durch das Abdampfen des Lösungsmittels Äther nicht beeinflußt wird.

Tabelle 18. *Mittlere Anflughäufigkeit auf verschiedene Verdünnungsstufen der Urinfraktion 5 innerhalb von 3 min in Prozent der Gesamtanflüge*

Verwendete Verdünnungsstufen	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1:1	20	43,0	± 17,5	— 14,0	1,76	19
1:10	20	51,6	± 23,4	+ 3,2	0,2	19
$1:10^2$	20	52 3	± 18,9	+ 4,6	0,5	19
$1:10^3$	20	49,9	± 5,2	— 0,2	0,07	19

Eine weitere Bestimmung der Duftstoffe des Urins muß sich demnach mit den Inhaltsstoffen der Fraktion 4 befassen. Wegen der Löslichkeitsverhältnisse beim beschriebenen Trennungsverfahren ist damit zu rechnen, daß Spuren der zu isolierenden Oestrogene auch im wäßrigen Rückstand der Ätherextraktion bleiben, oder nach den Verteilungsverhältnissen (Tabelle 19) Spuren von Oestradiol und Oestriol in der

Tabelle 19. *Löslichkeit der Oestrogene* (nach ZIMMERMANN)

Lösungsmittel-Systeme	Verteilungskoeffizient $K = \frac{\text{obere Phase}}{\text{untere Phase}}$		
	Oestron	Oestradiol	Oestriol
Äther: 1,5 n H_2SO_4	100	80	50
Äther: gesättigte $NaHCO_3$-Lösung	∞	∞	∞
Äther: Wasser	90	75	55
Äther: NaOH, gesättigt mit CO_2 auf p_H 9	∞	∞	22
Toluol: n — NaOH	0,14	0,046	0

Fraktion 1 und 2 vorkommen. Ein Teil der Oestrogene mag auch im Äther nach dem Ausschütteln mit Kalilauge zurückbleiben, so daß die allerdings statistisch nicht gesicherte Duftwirkung dieser Fraktion auf geringe unvermeidbare Beimengungen zurückgeführt werden könnte.

3. Versuche mit reinen Substanzen

Es soll zunächst geprüft werden, ob tatsächlich chemische Verbindungen, die vermutlich in der Fraktion 4 vorkommen, auch als gereinigte Substanzen eine anlockende Wirkung aufweisen.

a) Phenole. Reines *Phenol* war in einer 1%igen wäßrigen Lösung stark abstoßend, so daß die Mücken deutliche Schreckreaktionen zeigten, sobald sie in den phenolführenden Luftstrom kamen. Dagegen zeigten die Tiere bei den 3 stellungsisomeren Diphenolen *Brenzkatechin*, *Resorcin* und *Hydrochinon* eine deutlich positive Reaktion und flogen auf die duftführenden Öffnungen zahlreicher an (Abb. 10).

Genau abgewogene Mengen reiner Substanz der Firma Merck wurden in 100 cm³ Äther gelöst und weiter verdünnt. 1 oder 5 cm³ dieser verschieden konzentrierten Lösungen wurden auf Filterpapier aufgetragen und der Äther vorsichtig abgedampft. Auf diese Weise konnte eine sehr kleine, aber bekannte Substanzmenge gleichmäßig auf die Papierfläche verteilt werden und verdampfte bei 37° C in Waschflaschen.

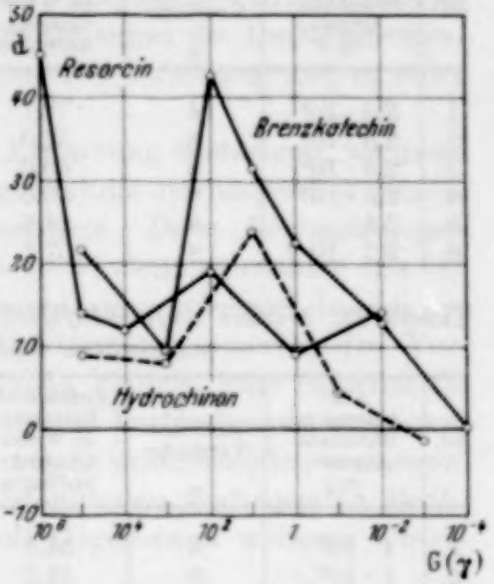


Abb. 10. Differenz zwischen der mittleren Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und die 3 Diphenole

Die Wirkung abnehmender Verdünnungsstufen der 3 Diphenole wurde in je 8 Versuchen geprüft (Tabelle 20—22, Abb. 10). Für das ortho-Diphenol *Brenzkatechin* läßt sich bei einer Ausgangsmenge von 100 mg eine Anlockung nachweisen und die mittlere Anflughäufigkeit mit großer Sicherheit von einer zufälligen Bevorzugung der Kontrollströmung abgrenzen. Die gleiche Wirkung konnte bei fast allen untersuchten Verdünnungsstufen bis zu $1{,}3 \cdot 10^{-4}$-γ-Brenzkatechin/cm³ beobachtet werden. 2,5 g *Resorcin* bewirken mit Sicherheit ein Anfliegen

Tabelle 20. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Konzentrationen von Brenzkatechin*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	$1 \cdot 10^6$	8	61,0	± 8,7	+ 22,0	4,92	7
2.	$1 \cdot 10^3$	8	54,8	± 12,1	+ 9,6	1,93	7
3.	$1 \cdot 10^2$	8	71,4	± 8,1	+ 42,8	9,15	7
4.	13	8	65,7	± 10,1	+ 31,4	5,95	7
5.	1,3	8	61,4	± 12,1	+ 22,8	3,96	7
6.	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	8	56,5	± 13,9	+ 13,9	1,75	7
7.	$1{,}3 \cdot 10^{-4}$	8	50,2	± 22,9	+ 0,4	2,97	7

der dufthaltigen Luft. Diese Bevorzugung bleibt auch bei einer Verminderung der Substanzmenge bis auf $2{,}5 \cdot 10^{-2}\,\gamma$ bestehen. Obgleich die Versuche in gleicher Weise wie bei den anderen Diphenolen durchgeführt wurden, läßt sich nur bei *Hydrochinon* die mittlere Anflughäufigkeit auf die verschieden stark konzentrierten dufthaltigen

Tabelle 21. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Resorcin-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	$2{,}5 \cdot 10^6$	4	72,7	$\pm$ 8,5	+ 45,4	6,9	3
2.	$2{,}5 \cdot 10^5$	8	57,0	$\pm$ 10,7	+ 14,0	2,82	7
3.	$2{,}5 \cdot 10^4$	8	56,0	$\pm$ 13,3	+ 12,0	1,73	7
4.	$2{,}5 \cdot 10^2$	8	59,6	$\pm$ 8,8	+ 19,2	4,41	7
5.	2,5	8	54,6	$\pm$ 12,7	+ 9,2	1,09	7
6.	$2{,}5 \cdot 10^{-2}$	8	57,1	$\pm$ 3,7	+ 14,2	5,12	7

Tabelle 22. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Hydrochinon-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	$1 \cdot 10^6$	8	54,5	$\pm$ 8,2	+ 9,0	1,26	7
2.	$1 \cdot 10^3$	8	54,2	$\pm$ 9,1	+ 8,4	1,98	7
3.	10	8	62,1	$\pm$ 15,6	+ 24,2	3,26	7
4.	$1 \cdot 10^{-1}$	8	52,2	$\pm$ 15,5	+ 4,4	0,6	7
5.	$1 \cdot 10^{-3}$	8	48,7	$\pm$ 9,3	— 1,3	0,52	7

Luftströmungen nicht gegenüber der Kontrolle absichern. Bei einer Menge von 10 γ ist jedoch eine Anlockung wahrscheinlich.

Die jeweils 50 Mücken reagierten in den einzelnen Wiederholungsversuchen mit gleichen Substanzmengen und bei den Versuchsreihen mit verschiedenen Duftstoffen sehr ähnlich. Daher darf die Unsicherheit einer Anlockung bei para-Diphenol als Anzeichen einer spezifischen Eigenheit des Hydrochinons gelten. Es muß dabei vor allem an die verschiedene Flüchtigkeit der Substanzen gedacht werden.

Die Mücken reagieren in dem verwendeten Verfahren nur auf die verdampften Moleküle, die vom Luftstrom mitgerissen, in den Versuchsraum gelangen. Alle Substanzen, selbst Metalle haben einen Dampfdruck, so daß sich im Versuchsgefäß über den festen, fein verteilten Diphenolen eine Gasphase bilden wird. Da die Luft, die ständig durch das Gefäß strömt, die Ausbildung eines Gleichgewichtszustandes zwischen Verdampfung und Sublimation verhindert, kann der Sättigungsdampfdruck nicht erreicht werden. Nach den Vorstellungen der kinetischen Theorie der Materie (vgl. EUCKEN 1942) ist die Ausbildung des partialen Dampfdrucks von der Verdampfungsgeschwindigkeit und der Temperatur abhängig. Die Anzahl der verdampften Moleküle wird von der Kristalloberfläche bestimmt, da sich bei einer feinen Verteilung die Zahl der Übergänge in die Gasphase erhöht. Außerdem ist der Dampfdruck bis zur Ausbildung des Sättigungsdruckes von der Menge der Substanz abhängig, sofern sie nur in genügend dünner Schicht aufgetragen ist.

In unseren Versuchen werden sehr kleine Substanzmengen gleichmäßig auf einem Filterpapier verteilt. Da die Fläche bei allen Ver-

dünnungsstufen etwa gleich ist, dürfte die *Molekülzahl* im Luftstrom bei derselben Verbindung nur noch von der aufgetragenen Substanzmenge abhängig sein. Beim Vergleich verschiedener Stoffe sind die speziellen Verdampfungsgeschwindigkeiten zusätzlich von Bedeutung. Daher wird bei entsprechend geringen Stoffmengen die Duftkonzentration im Luftstrom mit den Verdünnungsstufen abnehmen und zu einer Reaktionsabnahme der Mücken führen.

Beim Brenzkatechin läßt sich diese Erwartung bestätigen, während die Ergebnisse mit Resorcin diese Anflugabnahme nur undeutlich zeigen. Für das Hydrochinon ist sie nicht gesichert. Diese Beobachtungen lassen 2 Deutungen zu: Einmal könnte die Reaktionszunahme erst bei einer höheren als der untersuchten Konzentration erfolgen, da sich bei dieser Verbindung gegenüber den Konstitutionsisomeren die Verdampfungsgeschwindigkeit verändert haben könnte; zum anderen ist es denkbar, daß die Mücken spezifisch auf die Verbindungen reagieren, d. h. daß sie zwischen den Stellungsisomeren zu unterscheiden vermögen. Eine Entscheidung dieser Alternative ist mit den vorliegenden Beobachtungen noch nicht möglich. Sie soll Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Luftströme mit ortho- und meta-Diphenolen (Brenzkatechin, Resorcin) üben mit Sicherheit eine stärkere Wirkung auf weibliche Stechmücken aus als ein duftfreier Luftstrom. Diese Reaktionsstärke ist abhängig von der Konzentration der verdampften Moleküle. Die Mücken reagieren auf die 3 stellungsisomeren Diphenole verschieden.

b) Steroide. In gleicher Weise wie die Diphenole wurden verschiedene Verdünnungsstufen der Oestrogene geprüft[1].

Oestron. Kristallisiertes Oestron wurde in Azeton gelöst und in mehreren Stufen verdünnt, so daß 1 cm³ Lösungsmittel $10—1{,}25 \cdot 10^{-5}\,\gamma$

Tabelle 23. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Oestron-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	10	8	37,7	± 27,6	− 27,6	1,74	7
2.	1,25	16	58,5	± 13,4	+ 17,0	2,81	15
3.	$1{,}25 \cdot 10^{-1}$	14	62,7	± 11,4	+ 25,4	6,17	13
4.	$1{,}15 \cdot 10^{-2}$	10	57,2	± 3,2	+ 14,4	3,25	9
5.	$1{,}25 \cdot 10^{-3}$	8	54,1	± 27,5	+ 8,2	0,92	7
6.	$1{,}25 \cdot 10^{-4}$	12	57,1	± 19,0	+ 14,2	1,23	11
7.	$1{,}25 \cdot 10^{-5}$	4	42,6	± 13,2	− 14,8	1,61	3

[1] Für die Überlassung von reinen Präparaten bin ich Herrn Prof. Dr. A. Butenandt, der Firma Schering (Berlin) und den Herren Dozenten Dr. Knörr und Dr. Göbel von der Universitäts-Frauenklinik Tübingen sehr zu Dank verpflichtet.

enthielt (Tabelle 23). Die Anflüge nahmen mit kleiner werdender Substanzmenge bis zu $1{,}25 \cdot 10^{-1}\,\gamma$ zu, um dann bei noch weiterer Substanzverminderung kleiner zu werden. Nur die mittlere Anflughäufigkeit bei $1{,}25$—$1{,}25 \cdot 10^{-2}\,\gamma$ ist ausreichend von ihrer gleichzeitigen Kontrolle unterschieden (Abb. 14).

3,17 β-Oestradiol. Von reinem, kristallisierten Oestradiol wurde ebenfalls eine Verdünnungsreihe in Alkohol angesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 24 zusammengestellt (Abb. 15). Beim Oestradiol nahm

Tabelle 24. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Oestradiol-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl auf Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	50	2	43,7	± 16,7	− 12,6	0,74	1
2.	14	8	55,7	± 13,1	+ 11,4	1,83	7
3.	1,4	8	59,8	± 16,0	+ 19,6	3,47	7
4.	$1{,}4 \cdot 10^{-1}$	8	56,4	± 18,1	+ 12,8	1,39	7
5.	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	8	57,0	± 13,7	+ 14,0	2,63	7
6.	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	8	64,4	± 18,5	+ 28,8	3,14	7
7.	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	8	62,1	± 10,5	+ 24,2	4,66	7
8.	$1{,}4 \cdot 10^{-5}$	8	63,8	± 3,6	+ 27,6	4,78	7
9.	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	8	52,6	± 16,6	+ 5,2	0,61	7
10.	$1{,}4 \cdot 10^{-7}$	8	56,1	± 26,5	+ 12,2	0,88	7
11.	$1{,}4 \cdot 10^{-9}$	12	59,7	± 26,5	+ 19,4	2,84	11

auch die Anflugreaktion zu, je weniger Substanz für den Versuch verwendet wurde. Das Reaktionsmaximum lag bei Substanzmengen zwischen $1{,}4 \cdot 10^{-3}$ bis $1{,}4 \cdot 10^{-5}\,\gamma$. Die Mücken flogen bei geringen Mengen, d. h. bei entsprechend geringen Duftkonzentrationen im Versuchsraum, schwächer an. Wurde dagegen die Konzentration sehr hoch, so zeigte sich sogar eine Bevorzugung der Kontrolle. Nur bei einigen wenigen Beobachtungsreihen war die Streuung so groß, daß eine Absicherung der Anflugmittelwerte auf die Duftströmung nicht möglich war. Ihre Ursache ist unklar, doch darf man darin keine spezifische Eigenart des Oestradiol sehen. Diese Werte sind in der graphischen Darstellung in Klammern gesetzt. Bei der sehr kleinen Menge von $1{,}4 \cdot 10^{-9}\,\gamma$-Oestradiol, von denen nur die verdampften Moleküle zu den Mücken gelangten, war ebenfalls ein positiver Effekt zu beobachten, der mit hoher Wahrscheinlichkeit von der Kontrolle verschieden ist. Eine Bestimmung der Größenordnung der möglichen Moleküldichte soll für $10^{-9}\,\gamma$-Oestradiol durchgeführt werden.

Nimmt man an, daß die gesamte in den Verdampfungsraum eingebrachte Substanzmenge verdampft, und zwar gleichmäßig während 30 min Versuchszeit in die ungefähr 53 Liter Luft, die darüber hinstreichen, so berechnet sich die Anzahl

der Moleküle im Mittel bei $10^{-9}\,\gamma$ Oestradiol aus dem Molekulargewicht und der Loschmidtschen Zahl auf

$$\frac{6{,}06 \cdot 10^{23}}{272{,}4 \cdot 10^{6} \cdot 10^{9} \cdot 53 \cdot 10^{3}} = 41 \text{ Moleküle je 1 cm}^3 \text{ Luft.}$$

Diese Bedingung ist jedoch sicher nicht erfüllt, da nicht alles verdampft und zu Versuchsbeginn mehr Moleküle in der Zeiteinheit abgegeben werden als zu Versuchsende. Am Anfang mag wohl die Konzentration von 41 Molekülen je 1 cm³ Luft erreicht werden, unter Umständen sogar überschritten werden, am Ende des Versuches wird sie sicher im Mittel wesentlich geringer sein.

3,16 α-, 17 β-Oestriol. Verschiedene Verdünnungsstufen von Oestriol in Azeton zeigten den gleichen Effekt wie die beiden anderen Oestrogene (Tabelle 25). Im Gegensatz dazu war bei Oestriol kein ausgeprägtes Maximum zwischen 50—$8{,}7 \cdot 10^{-9}\,\gamma$ zu erkennen (Abb. 11). Wegen der wenigen Wiederholungsversuche soll dem hohen Wert bei $50\,\gamma$ nicht zuviel Bedeutung beigemessen werden. Bei jeder Verdünnungsstufe war der Mittelwert der Anflüge sicher von der Kontrolle verschieden. Selbst bei $8{,}7 \cdot 10^{-9}\,\gamma$ aufgetragener Substanz bevorzugten die Mücken die durfthaltige Luft vor der Kontrolle. Kleinere Substanzmengen wurden nicht mehr geprüft, da die Testapparatur für die Untersuchung solch geringer Mengen nicht geeignet ist. Jedoch kann

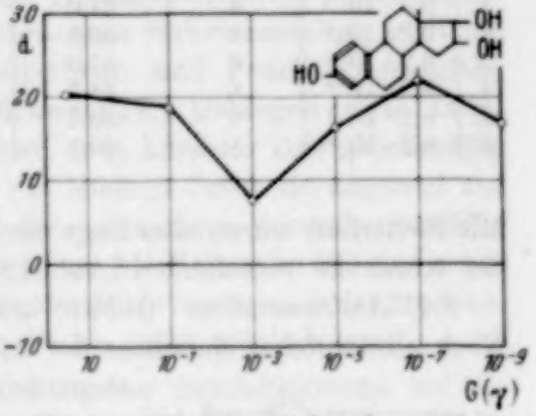


Abb. 11. Differenz zwischen der mittleren Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und Oestriol-Konzentrationen

Tabelle 25. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Oestriol-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	50	2	60,1	± 3,1	+ 20,2	8,6	1
2.	$8{,}7 \cdot 10^{-1}$	20	59,4	± 9,5	+ 18,8	3,45	19
3.	$8{,}7 \cdot 10^{-3}$	20	53,8	± 12,7	+ 7,6	2,3	19
4.	$8{,}7 \cdot 10^{-5}$	20	58,1	± 3,7	+ 16,2	6,26	19
5.	$8{,}7 \cdot 10^{-7}$	20	60,8	± 14,4	+ 21,6	3,4	19
6.	$8{,}7 \cdot 10^{-9}$	20	58,5	± 16,4	+ 17,0	3,3	19

man aus dem Kurvenverlauf noch positive Reaktionen bei kleineren Mengen erwarten.

Equilenin. Neben den 3 im menschlichen Harn vorkommenden Oestrogenen wurde auch das Equilenin in alkoholischer Lösung unter-

sucht (Tabelle 26). Hier war zwischen 10^{-4} und $10^{-5}\,\gamma$ eine maximale Reaktion zu beobachten. Bei größeren oder kleineren Substanzmengen nahm die Reaktion ab, jedoch bei $9{,}2 \cdot 10^{-1}\,\gamma$ wahrscheinlich wieder zu.

Tabelle 26. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Equilenin-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	$9{,}2 \cdot 10^{-1}$	4	61,0	± 11,7	+ 22,0	8,56	3
2.	$9{,}2 \cdot 10^{-2}$	8	53,8	± 23,6	+ 7,8	0,79	7
3.	$9{,}2 \cdot 10^{-3}$	8	57,0	± 16,2	+ 14,0	1,52	7
4.	$9{,}2 \cdot 10^{-4}$	8	64,7	± 9,5	+ 29,4	6,55	7
5.	$9{,}2 \cdot 10^{-5}$	8	60,2	± 8,8	+ 20,4	4,43	7
6.	$9{,}2 \cdot 10^{-6}$	8	59,1	± 45,7	+ 18,2	1,54	7

Mit Sicherheit waren allerdings nur die 4. und 5. Verdünnungsstufe von der Kontrolle verschieden (Abb. 12).

3,17-Androstandion (reines, kristallisiertes Präparat) (Tabelle 27). Nach allmählicher Zunahme der Aktivität mit kleiner werdender Substanzmenge wurde bei $2{,}6 \cdot 10^{-5}\,\gamma$ ein Maximum erreicht. Danach nahm die Reaktion wieder ab. Wenn auch im Falle der höchsten und geringsten Konzentration eine Abgrenzung zur Kontrolle nicht sicher war, so zeigten doch die beiden anderen Verdünnungsstufen eine sichere Bevorzugung der Duftseite, woraus man auf eine Lockwirkung durch Androstandion schließen darf (Abb. 16).

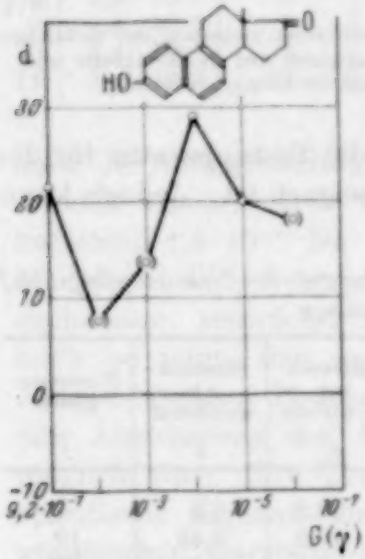


Abb. 12. Differenz zwischen der mittleren Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und Equilenin-Konzentrationen

Die positive Wirkung der 4 untersuchten Oestrogene und des Androstandion auf die Stechmücken scheint sehr stark zu sein, da sie selbst noch in sehr großer Verdünnung die Anflugreaktion auszulösen vermögen. Es ist auffallend, daß bei Mengen von mehr als 10 γ Substanz gelegentlich ein stärkerer Anflug auf der Kontrollseite zu beobachten ist, doch kann diese Bevorzugung nicht statistisch gesichert werden. Eine Schreckreaktion der Mücken wie bei Äther oder Phenol ist in keinem Fall vor den Dufttrichtern beobachtet worden, so daß eine phobische Wirkung höherer Duftkonzentrationen ausgeschlossen werden kann. Dieser Konzentrationseffekt bei Oestrogenen ist verständlich,

Tabelle 27. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf verschiedene Androstandion-Konzentrationen*

Nr.	Aufgetragene Substanzmenge in γ	Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
1.	$2{,}6 \cdot 10^{-1}$	12	54,0	$\pm$ 10,8	+ 8,0	1,57	11
2.	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	12	56,0	$\pm$ 3,4	+ 12,0	4,05	11
3.	$2{,}6 \cdot 10^{-5}$	12	62,0	$\pm$ 10,6	+ 24,0	5,48	11
4.	$2{,}6 \cdot 10^{-7}$	8	55,5	$\pm$ 14,6	+ 11,0	2,13	7

wenn man neben der Abhängigkeit der Duftkonzentration im Versuchsraum von der zur Verdampfung gebrachten Substanzmenge auch die zusätzliche Orientierung durch Temperatur- und Feuchtigkeitsgefälle und durch die Luftströmung berücksichtigt. Gelangen viele Duftmoleküle in den Versuchskäfig, so wird er in kürzerer Zeit gleichmäßig mit Duftstoffen erfüllt sein, so daß die Mücken durch sie angeregt auf beide Luftströmungen anfliegen und dabei in einigen Versuchen zufällig einen Mehranflug auf die Kontrolle zeigen. Als Kriterium für eine echte Bevorzugung gilt jedoch die Sicherung der Mittelwerte nach der Student-Verteilung, die in den beobachteten Fällen nicht möglich war.

Mit dem Nachweis einer Duftwirkung der Sexualhormone auf die Stechmücken ist eine Stoffgruppe völlig neu in das Blickfeld und die zur Diskussion als mögliche Faktoren der Wirtsorientierung stehenden Verbindungen gerückt.

Mit Sicherheit konnte eine positive Wirkung der 4 Oestrogene: Oestron, 3,17 β-Oestradiol, 3,16 α-, 17 β-Oestriol und Equilenin beim Anflug gegen eine feuchtwarme Luftströmung nachgewiesen werden. Auch 2,17-Androstandion zeigt eine Beeinflussung der weiblichen Mücken im gleichen Sinne. Die Stärke dieser Wirkung ist von der Konzentration der Duftmoleküle abhängig. Die maximale Reaktion der Mücken liegt bei den verschiedenen Substanzen nicht bei den gleichen Konzentrationen. Die Stoffe sind in sehr starker Verdünnung noch wirksam.

III. Papierchromatographische Versuche

Eine weitere Auftrennung durch die Papierchromatographie der Urinfraktion 4 war mit guten Erfolgsaussichten erst möglich, nachdem durch vorhergehende Versuche eine Begrenzung der möglichen Stoffgruppen erfolgt war.

Die verwendete Methode: Im wesentlichen wurde nach einem von STRUCK (1958) beschriebenen Verfahren gearbeitet, das acetyliertes Papier (Schleicher und Schüll 2043b) benutzt und aufsteigend mit einem Methanol-Wassergemisch (8:2) entwickelt. Nach dem Trocknen der Chromatogramme an der Luft wurde entweder mit einer 10%igen Antimonpentachloridlösung in Tetrachlorkohlenstoff angefärbt

und 3 min bei 80° C getrocknet oder mit einer alkoholischen Jodlösung gefärbt. Die charakteristische Färbung der Oestrogene konnte mit Antimonpentachlorid erhalten werden.

Nach diesem Verfahren angefertigte Strichchromatogramme wurden zerschnitten und die einzelnen Streifen auf ihre Duftwirkung im Olfaktometer geprüft. Die gleichzeitig mitlaufenden Vergleichssubstanzen gaben die Streifeneinteilung an. Die mittlere Anflughäufigkeit auf die 6 Streifen der Fraktion 4 wird in Tabelle 28 dargestellt (Abb. 13).

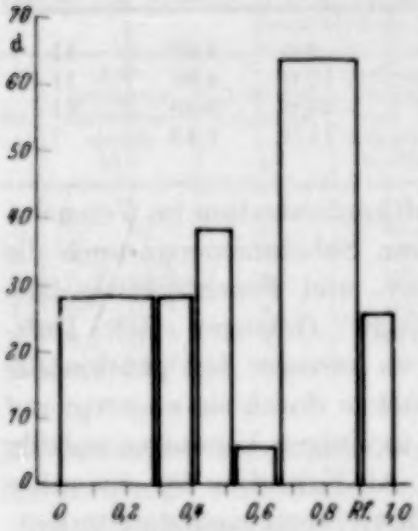


Abb. 13. Graphische Darstellung der Anflugdifferenzen auf Papierstreifen eines Chromatogramms der Urinfraktion 4

Eine deutliche Reaktion wurde durch den 3. und 5. Streifen ausgelöst und möglicherweise auch vom 6. Streifen, der allerdings eine schwächere positive Wirkung zeigte. Als einziger ist aber nur der Streifen 5 ausreichend gegenüber der Kontrolle gesichert. Seine R_f-Werte stimmen mit den Oestrogen-R_f-Werten überein. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, daß den Oestrogenen als Duftstoffen der phenolischen Urinfraktion ein Hauptteil der Lockwirkung zukommt, während einem zweiten Maximum bei kleineren R_f-Werten noch keine bestimmte Substanz zugeordnet werden kann.

Tabelle 28. *Mittlere Anflughäufigkeit in 3 min in Prozent der Gesamtanflüge auf Papierchromatogrammstreifen der Urinfraktion 4*

Papierstreifen der Fraktion IV		Zahl der Versuche n	Anflüge auf Testseite in % des Gesamtanfluges	Streuung s	Differenz zur Kontrolle d	Student-Abweichung t	Freiheitsgrade f
Streifen	R_f-Wert						
1	0,0 —0,29	4	63,8	± 25,9	+ 27,6	1,55	3
2	0,3 —0,41	4	63,8	± 18,2	+ 27,6	2,57	3
3	0,42—0,52	4	68,8	± 1,8	+ 37,6	13,9	3
4	0,53—0,66	4	52,7	± 15,0	+ 5,4	0,52	3
5	0,67—0,9	4	81,8	± 7,7	+ 63,6	10,7	3
6	0,9 —1,0	4	62,7	± 9,3	+ 25,4	4,42	3

Der chemische Nachweis von Diphenolen und Oestrogenen im Chromatogramm durch spezifische Farbreaktionen ist an Substanzmengen von mehr als 5 γ gebunden. Ein direkter Nachweis der Oestrogene in der wirksamen Urinfraktion konnte auf diesem Weg nicht mit Sicherheit erbracht werden. Unterschiede in der Laufgeschwindigkeit und den charakteristischen Farbreaktionen und eine Störung durch

Begleitstoffe des Rohextraktes erschwerten eindeutige Aussagen. Da schon sehr geringe Mengen der Oestrogene als Duftstoffe wirken, sind die negativen Ergebnisse kein Argument gegen einen Gehalt an Oestrogenen in der auf Mücken wirksamen Fraktion.

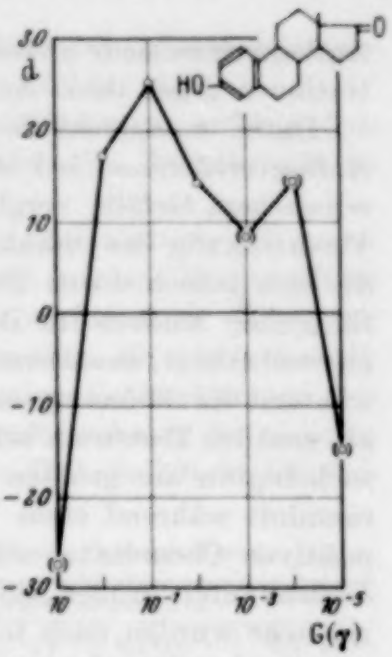


Abb. 14. Differenz zwischen der mittleren Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und Oestron-Konzentrationen

IV. Wirkung der Duftstoffkonzentrationen

Im allgemeinen ergaben sich ähnliche Kurvenverläufe bei Versuchen mit verschiedenen *Konzentrationsstufen* der Urinfraktionen und einiger Oestrogene, die mit abnehmender Konzentration eine zunehmende positive Reaktion zeigten. Nach Erreichen eines Maximums, das sich bei den einzelnen Stoffen an verschiedenen Stellen findet (Abb. 14—16), fällt die Kurve wieder ab. Eine konstante Beeinflussung der Ergebnisse durch die Versuchsanordnung ist wegen der spezifischen Kurven der 3 Diphenole auszuschließen, während der gesamte Kurvenzug die Bedeutung der Duftkonzentrationen für die Mücken veranschaulicht.

Die Fähigkeit der Mücken sich nach einem *Duftkonzentrationsgefälle* zu orientieren, wie es für Kohlendioxyd eindeutig beobachtet wurde,

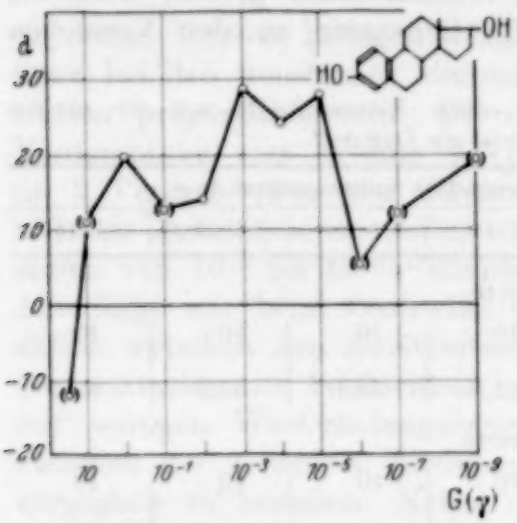


Abb. 15. Differenz zwischen der mittleren Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und Oestradiol-Konzentrationen

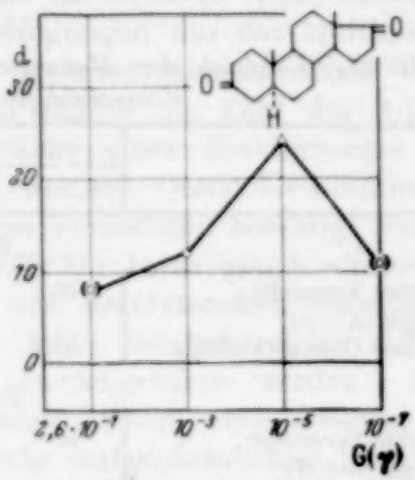


Abb. 16. Differenz zwischen der mittleren Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und Androstandion-Konzentrationen

war nächster Untersuchungspunkt. Bisher wurde ein derartiges Verhalten bei den Duftstoffen angenommen, doch sprechen die geringen

Anflugunterschiede zwischen Test- und Kontrollseite bei hohen Konzentrationen gegen diese Annahme.

Durch entsprechende Kombination der Oestriol-Versuche wurden Anflugverhältnisse bei starken Duftgefällen mit den Ergebnissen bei schwachem Gefälle verglichen. Von den beiden Luftströmen, die im Versuchskäfig des Olfaktometers entstehen, führt nur einer Duftstoffe, die sich jedoch durch Turbulenz und verstärkt durch Luftwirbel von fliegenden Mücken im Bereich der Wand, die den Einströmöffnungen gegenüberliegt, annähernd gleichmäßig auf beide Käfighälften verteilen, während der Strömung entgegen auf der Kontrollseite die Konzentration ab- und im Teststrom sehr rasch zunimmt. Dieses Gefälle ist bei Versuchsbeginn am größten und wird durch Anreicherung der Versuchsraumluft während eines Versuches im zweiten Teil kleiner. Bei einer positiven Chemotaxis müßte die Anflughäufigkeit in den ersten Versuchsminuten größer sein als in den folgenden ($a > b$). Die Oestriolversuche wurden nach folgendem Schema durchgeführt:

a	K (Kontrolle)
K	b
	20 min Pause
K	c
d	K

Um einen „Seiteneffekt" auszuschließen, werden die seitenverkehrten Wertpaare ($a + c$) mit den Zweitwerten ($b + d$) in Tabelle 29 verglichen. Entgegen der Erwartung sind bei Oestriolmengen von $8{,}7 \cdot 10^{-1}$ bis $8{,}7 \cdot 10^{-5}\,\gamma$ die Anflüge in der 2. Versuchshälfte größer, d. h. bei kleinerem Konzentrationsgefälle. Im Gegensatz zu den Versuchen

Tabelle 29. *Vergleich der Meßwerte der ersten Versuchshälfte mit der zweiten Versuchshälfte. Oestriol als Duftstoff*

	Verwendete Substanzmenge in γ				
	$8{,}7 \cdot 10^{-1}$	$8{,}7 \cdot 10^{-2}$	$8{,}7 \cdot 10^{-3}$	$8{,}7 \cdot 10^{-4}$	$8{,}7 \cdot 10^{-5}$
Erstwerte					
Zahl der Versuche	10	10	10	10	10
Anflüge ($a + c$) % der Gesamtanflüge .	55,7	52,5	55,1	65,9	59,6
Zweitwerte					
Zahl der Versuche	10	10	10	10	10
Anflüge ($b + d$) % der Gesamtanflüge .	62,0	55,1	61,0	56,0	57,3

mit Kohlendioxyd orientieren sich die Mücken bei den untersuchten Duftstoffen unter den verwendeten Versuchsbedingungen *nicht* nach dem Konzentrationsgefälle. So bleibt allein eine Aktivierung der

Mücken durch die Duftstoffe übrig, die bei den verwendeten geringen Konzentrationen durch sehr wenige Moleküle erfolgen muß.

Die Zahl der im Mittel auf die Trichteröffnungen anfliegenden Mücken ist von der *Duftstoffkonzentration* abhängig. Dies konnte in 2 Experimentreihen nachgewiesen werden.

Die Zahl der verdampften Moleküle wird bei kleinen Substanzmengen von der Menge bestimmt, die wiederum mit der Verdampfung abnimmt, so daß während eines längeren Versuches auch die davon abhängige Reaktion der Mücken zurückgehen müßte. Es wurde deshalb dieselbe Oestriolmenge in 2 aufeinanderfolgenden Beobachtungen mit einer 20 minütigen Pause ohne Ergänzung geprüft, wobei in den meisten Fällen, mit Ausnahme der 3. Verdünnungsstufe (Tabelle 30) die Mücken

Tabelle 30. *Verdampfungsversuch mit verschiedenen Oestriol-Mengen*

	Verwendete Substanzmenge in γ				
	$8{,}7 \cdot 10^{-1}$	$8{,}7 \cdot 10^{-3}$	$8{,}7 \cdot 10^{-5}$	$8{,}7 \cdot 10^{-7}$	$8{,}7 \cdot 10^{-9}$
1. Versuch					
Zahl der Versuche	10	10	10	10	10
Anflüge (a + b) % der Gesamtanflüge .	60,6	56,4	51,0	64,2	63,4
2. Versuch					
Zahl der Versuche	10	10	10	10	10
Anflüge (c + d) % der Gesamtanflüge .	57,0	51,3	62,0	57,8	53,6

im ersten Versuch heftiger anflogen als im zweiten. Diese Reaktion kann bei den konstanten Versuchsbedingungen nur der Duftkonzentration proportional sein. Bei einer Konzentrationsabnahme durch Verdampfung vom 1. zum 2. Versuch müßte die Zahl der Anflüge im 2. Versuch etwa der Reaktionsstärke eines Erstversuches mit kleinerer Substanzmenge entsprechen. Bei den Oestriol-Verdünnungsstufen von 10^{-1} bis $10^{-5}\,\gamma$ konnte diese Vermutung bestätigt werden. Allerdings war beim Oestradiol (Tabelle 31) keine gleich starke Reaktion zwischen den Zweitversuchen mit Erstversuchen schwächerer Konzentration zu beobachten. Dies kann möglicherweise auf die nur wenigen Wiederholungsversuche zurückgeführt werden. Denn zwischen der 1. und 3. Verdünnungsstufe scheint eine derartige Abhängigkeit zu bestehen. Neben der sehr wahrscheinlichen Beziehung zwischen Duftkonzentration und Anflugreaktion geben diese Versuche noch Anhaltspunkte über die Verdampfungsgeschwindigkeit, die besonders augenfällig bei Duftkonzentrationen von 10^{-7} bis $10^{-9}\,\gamma$ Oestriol und 10^{-5} bis $10^{-9}\,\gamma$ Oestradiol wird. Die einströmende Duftkonzentration vom Erst- zum Zweitversuch wird hierbei so gering, daß nur sehr wenige

Tabelle 31. *Verdampfungsversuch mit verschiedenen Oestradiol-Mengen*

	Verwendete Substanzmenge in γ						
	1,4	$1{,}4 \cdot 10^{-1}$	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-5}$	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$
1. Versuch							
Zahl der Versuche	4	4	4	4	4	4	4
Anflüge (a + b) % der Gesamtanflüge	66,6	67,5	54,7	73,0	64,4	68,6	69,5
2. Versuch							
Zahl der Versuche	4	4	4	4	4	4	4
Anflüge (c + d) % der Gesamtanflüge	53,0	45,2	59,4	55,6	59,9	58,9	58,8

Mücken zum Anfliegen aktiviert werden. Der gleiche Effekt bewirkt die Änderung der in Tabelle 29 aufgeführten Versuchsergebnisse zwischen 10^{-7} bis $10^{-9}\,\gamma$ Oestriol. Auffallend ist ferner, daß in beiden Versuchsreihen (Tabelle 30, 31) bei einer bestimmten Konzentrationsstufe der Wert im Zweitversuch höher liegt als im Erstversuch. Eine Deutung ist meines Erachtens durch die Strömungs- und Konzentrationsverhältnisse im Versuchsraum möglich und durch die Entfernung der Duftstoffe mit der Absaugvorrichtung. In derselben Weise lassen sich auch die höheren Anflughäufigkeiten in den Erstversuchen bei kleineren Substanzmengen gegenüber den Werten eines Erstversuches größerer Stoffmengen erklären, doch setzt eine endgültige Entscheidung dieser Phänomene weitere Versuche mit neuen Versuchsbedingungen voraus, bei deren Anlage die Vorstellung von der Aktivierung berücksichtigt werden muß.

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von BROWN, SARKARIA u. THOMPSON (1951), denen es mit niedrigen Achselschweißkonzentrationen gelang eine Anlockung hervorzurufen, während hohe Konzentrationen keine Anlockung zeigten. Es scheint in diesem Fall eine hohe Duftkonzentration die Mücken in der Wahlversuchsapparatur auf beiden Seiten so zu aktivieren, daß sie auf die Kontrolle ebenso stark oder gar heftiger reagieren als auf die Duftquelle.

D. Diskussion der Ergebnisse

Die Versuche mit Harn und reinen Substanzen geben Hinweise vor allem auf die Duftstoffwirkung von Diphenolen und Steroidhormonen. Hydrochinon, Resorcin und besonders Brenzkatechin sind als Abbauprodukte des Nahrungs- und Grundstoffwechsels im Harn nachgewiesen und dürften daher auch in freier oder gebundener Form, ebenso wie die Oestrogene, im Blut enthalten sein. Es erscheint durchaus möglich,

daß neben den geprüften Substanzen noch weitere phenolische Verbindungen an der Duftstoffwirkung des Wirbeltierkörpers beteiligt sind.

Interessant ist der unterschiedliche Einfluß der einzelnen Oestrogene, von denen die höher oxydierten Verbindungen in großer Verdünnung noch stark auf die Mücken wirken. Auf die Möglichkeit einer Dufteigenschaft der Steroide, die an sich schwer flüchtige Verbindungen sind, weist die Tatsache hin, daß einige Steroide bei 60° C für den Menschen einen charakteristischen Geruch haben. Daß es die Hautoberfläche ist, welche die Duftstoffe trägt, zeigen die Beobachtungen von HADDOW (1942), daß ungewaschene Personen mehr Mücken anlocken als gewaschene. Diese Befunde machen erst die Wirkung der Steroide in der Natur verständlich. Wie diese Stoffe, die bei Tier und Mensch nur in kleinen Mengen vorhanden sind und nur zu einem kleinen Prozentsatz mit der Transpiration, Atmung und Perspiration an die Oberfläche gelangen, und in welchen Mengen sie an die umgebende Luft abgegeben werden, ist noch ungeklärt. Für das Vitamin B_{12}, Thiaminchlorid, wird nach SHANNON (1943), falls es dem Menschen per os in kleinen Mengen zugeführt wird, eine schnelle Ausscheidung durch die Haut angenommen. Es wirkt dann mückenabstoßend. Bemerkenswert sind daher die geringen, im Versuch noch wirksamen Konzentrationen der Oestrogene sowie der Diphenole, die eine Duftwirkung der vom Wind vertragenen Substanzen selbst noch in größerer Entfernung vom Wirt in sehr geringen Mengen erklären dürften.

Zeigen schon diese Ergebnisse, daß es sich nicht um einen einzelnen, sondern um eine ganze Reihe von Duftstoffen handelt, so beweisen dies auch die Versuche mit Aminosäuren. Erstmals beschrieb RUDOLFS (1922) eine anlockende Wirkung der Aminosäuren Phenylalanin, Alanin, Asparaginsäure und Cystin, sowie für Hämoglobin und ein Pepton. Demgegenüber testeten SCHAERFFENBERG u. KUPKA (1951) mit *Culex pipiens* und *Anopheles maculipennis* Serumalbumin (5%ig), Serumglobulin (4%ig) und Hämatin (5%ig) auf ihre Lockwirkung ohne Erfolg. In ihrer zweiten Veröffentlichung (1959) machen sie einen „Mischgeruch" aus Aminosäuren und den Reststickstoffverbindungen des Blutes für den gesuchten „Blutduft" verantwortlich, während nach unseren Beobachtungen auch einzelne Stoffe wirksam sind. So sollten die in verschiedenen Konzentrationen geprüften Aminosäuren Cystein, Cystin, Alanin und Glutamin, die Methylamine und Ammoniak, sowie Milchsäure keine oder nur eine sehr geringe Lockwirkung haben, während sie in einer Mischung zu gleichen Teilen selbst in 2000facher Verdünnung noch anlockend wirken sollten. Nähere Angaben über das Testverfahren, die verwendeten Konzentrationen und die Wirkungskurven fehlen leider in der kurzen Mitteilung. Bei Körpertemperatur soll die Wirkung einer 0,05—0,1%igen Mischung am größten sein und bei Verstärkung zu

einer 1%igen Lösung abnehmen. Wie die eigenen Untersuchungen zeigten, hat besonders die aromatische Aminosäure Tyrosin auch einzeln auf *Aëdes aegypti* eine Anlockwirkung, während Gemische aliphatischer Aminosäuren wirkungslos blieben. Wir nehmen an, daß ähnlich wie bei den Oestrogenen die Duftwirkung der Aminosäuren substanzspezifisch ist und daß wenige Moleküle ausreichen dürften, die Mücken zu aktivieren. Aus theoretischen Erwägungen erscheint es unwahrscheinlich, daß ein *bestimmtes* Mischungsverhältnis sich über eine größere Entfernung von der Duftquelle erhält und von der Mücke wahrgenommen wird. Allerdings sind noch weitere Versuche mit Aminosäuren notwendig um eine Entscheidung zu fällen, ob die phenolischen Substanzen oder die Aminosäuren bei der Duftwirkung im Freiland die Hauptrolle spielen.

Der scheinbare Widerspruch zu unseren Ergebnissen bei BURGES u. BROWN (1957), die durch einen angefeuchteten Rückstand eines Ätherextraktes von Blut keine Anlockung fanden, erklärt sich wohl aus der Tatsache, daß im Blut die lipophilen Duftstoffe vor allem an Eiweiß gebunden vorliegen und daher schwer oder gar nicht mit Äther abzutrennen sind. In jedem Fall empfiehlt sich eine schwache Hydrolyse. Die negativen Ergebnisse, die beide Autoren erhielten, als sie, um das Kohlendioxyd zu entfernen, das Blutserum mit Bariumchlorid und im Vakuum behandelten, finden ihre Ursache wohl nicht in einer Zerstörung oder Abdampfung der Duftstoffe. Vielmehr erscheint einmal vorhandene Stimulierung und Chemotaxis durch Kohlendioxyd fortzufallen, und zum anderen kann der beobachtete Konzentrationseffekt eine Abschreckung vortäuschen. Die Vakuumbehandlung wird sicher nicht schädigen, da selbst bei den Vakuumdestillationen im Rückstand eine Duftkomponente bleibt. Es ist anzunehmen, daß, wie in unseren Versuchen, ein chemisch nicht mehr nachweisbarer Teil der Verbindungen überdestilliert; doch sind diese Duftstoffspuren im Destillat physiologisch auf die Mücken wirksam. Zugleich wird die Duftkonzentration bei Vakuumbehandlung im Rückstand nur soweit verringert, daß sich eine scheinbare Bevorzugung der Kontrolle durch den Konzentrationseffekt bemerkbar macht.

Die von REUTER (1936) durch eine Suspension von Schweinemist angelockten *Anopheles maculipennis*- und *Aëdes*-Mücken, konnte er nicht mit Indol, Skatol und einigen Fettsäuren beeinflussen, während man leicht an eine Wirkung der im Harn vorkommenden phenolischen Verbindungen und Aminosäuren denken kann. Bei der von MARTINI u. TEUBNER (1933) beschriebenen Anlockung von *Anopheles pseudopictus*, dagegen keiner von *Anopheles maculipennis*, durch Dung, könnten zusätzlich auch Temperatur-, Feuchtigkeit- und Kohlendioxydgradienten wirksam sein.

Mit reinen Substanzen wurde auch schon früher experimentiert, von denen die niedermolekularen organischen Säuren bei REUTER wirkungslos waren, während DE LONG et al. (1949) *Aëdes aegypti* mit Ameisensäure und Essigsäure deutlich und mit Propionsäure und Milchsäure nur schwach anlockte. BROWN, SARKARIA und THOMPSON (1951) haben bei der gleichen Art für Essigsäure und Milchsäure keine Reaktion finden können. Die eigenen Ergebnisse mit Schweißmischungen lassen bisher keinen eindeutigen Schluß auf die Duftwirkung der Fettsäuren zu. Bei der Urintrennung würden die Organischen Säuren in der Fraktion 2 und eventuell der Fraktion 1 enthalten sein und könnten die schwachen Wirkungen verursachen. DE LONG et al. (1945) hatten auch mit Methylkaprat[1], Natriumakrylat und „Hybutrin" keinen Anlockerfolg. Während es BROWN (1951) gelang mit Benzindämpfen und Äthyläther *Aëdes intrudens*, *Aëdes trichurus* und *Aëdes stimulans* im Freiland anzulocken, erwies sich Äthanol und Äthylbutyrat im Laborversuch als unwirksam. Die Wirkung der Benzindämpfe könnte unter Umständen auf Beimengungen von Diphenolen oder anderen oxyaromatischen Verbindungen im amerikanischen Treibstoff beruhen. Die geschilderten Ergebnisse sind aber nur schwer zu vergleichen, da die Untersuchungsmethoden außerordentlich verschieden sind. Es könnten z. B. negative Ergebnisse auch darauf beruhen, daß die Konzentrationen der geprüften Substanzen beim Versuch zu hoch war. In den oxyaromatischen Verbindungen und den Steroiden konnten neue Stoffgruppen den bisher untersuchten Substanzen mit oft zweifelhafter Lockwirkung gegenübergestellt werden, deren positive Wirkung im Olfaktometer gesichert ist.

Ein neuer Gesichtspunkt für die oft diskutierte spezifische *Anthropo-* und *Zoophilie* verschiedener Mückenarten und eine Erklärung der individuellen Schwankungen der Attraktionsstärke der Wirtstiere ergibt sich vermutlich aus der Duftwirkung der Sexualhormone und bestimmter Abbauprodukte der Nahrung.

So erwähnt GRASSI (1901), daß Mücken Haustiere vor dem Menschen bevorzugen. Allerdings könnten dabei statt unterschiedlichen Duftes auch Temperatur- und Feuchtigkeitsunterschiede eine Rolle spielen. WEATHERBEE (1944) beobachtete im Freiland eine Bevorzugung von Pferden vor Menschen durch *Anopheles albimanus*, nur ein weiteres Beispiel für eine Fülle ähnlicher Wirtsvorlieben. Auf die starken individuellen Schwankungen gleichartiger Tiere in der Attraktionsstärke machten BULL u. REYNOLDS (1924) aufmerksam. Sie können größer sein als die Unterschiede zwischen verschiedenen Arten. RIBANDS (1949) fand in Westafrika, daß, bei gleicher Gesamtanlockung der einzelnen männlichen Versuchspersonen über eine lange Zeit, ihre

[1] Nach RAHM (1957): Methylkrapat.

Anlockung in kleinen Zeitabständen stark variierte. MUIRHEAD-THOMSON (1951) stellte auf Jamaica bei mehreren Familien fest, daß die Erwachsenen mehr als die Kinder, und die Männer meist stärker als die Frauen Mücken anlockten, während THOMAS (1951) an der Sierra Leone bei Negerfamilien eine größere Anflugstärke auf die Frauen beobachtete. Bei der Handanlockung durch Männer fanden SMART u. BROWN (1956) eine Abhängigkeit von der Transpiration bei Angehörigen gleicher Rasse, während bei verschiedener Rassenzugehörigkeit die Werte erheblich schwankten. Die unterschiedliche Bevorzugung von Männern oder Frauen durch die Mücken im Laboratorium, die RAHM (1956) mit *Aëdes aegypti* in Vergleichsversuchen beobachtete, könnte, ebenso wie die Unterschiede zwischen gleichgeschlechtigen und die große Divergenz zwischen den Wiederholungsversuchen mit denselben Versuchspersonen, durch Schwankungen des Oestrogengehalts und bei den Wahlversuchen durch Konzentrationseffekte erklärt werden. Eigene Untersuchungen von Männer- und Schwangerenharn erwiesen letzteren noch in geringeren Konzentrationen als anlockend, obgleich die Phenolfraktion beider Urine in gleicher Weise wirkte. Zusätzlich muß noch eine beträchtliche Veränderung der Körperausdünstungen durch Umwelts- oder physiologische Einflüsse beachtet werden. So zeigte DE MEILLON (1935), daß eine Ernährungsänderung einen Einfluß auf die Attraktion von Stechmücken haben kann, die KHAN (1957) experimentell an Ratten mit Kohlenhydrat-, Protein- und Fettdiät in einer vermehrten und verschiedenen Anlockung von *Aëdes aegypti* nachweisen konnte. In diesem Zusammenhang sind auch die Ergebnisse mit Aminosäuren von Interesse.

Die Untersuchungen über die Bedeutung von Temperatur, Feuchtigkeit, Luftströmung, Kohlendioxyd und das Alter der Versuchstiere bei der Wirtsorientierung bestätigten im wesentlichen die Ergebnisse älterer und neuerer Untersuchungen. Diese Befunde erlauben es, sich über das Zusammenspiel der anlockenden Faktoren bei der Wirtsorientierung der Mücken folgendes Bild zu machen:

Die Mücke wird durch die Duftstoffe, möglicherweise kombiniert mit einer niedrigen Kohlendioxydkonzentration (s. S. 197), in größerer Entfernung vom Wirt zu ihrem Suchflug gegen den Wind aktiviert. Durch eine positive Anemotaxis gelangen die Tiere in die Nähe ihrer Beute und kommen dort in den Bereich eines Kohlendioxydgefälles, in dem sie sich auch schräg seitlich zur Windrichtung auf die Kohlendioxydquelle zu und damit in den Bereich der nur in unmittelbarer Wirtsnähe wirkenden Temperatur- und Feuchtigkeitsgefälle bewegen. Sicher vermag die Mücke unter günstigen Umständen aus einiger Entfernung ihre Beute auch zu sehen. Hierzu haben BROWN (1951, 1954) und SIPPELL u. BROWN (1953) festgestellt, daß sich die Mücken nach Hell-Dunkel-Kontrasten richten und von bewegten Gegenständen stärker

angelockt werden als von unbewegten. Ferner wiesen sie 1954 im Freiland das Farbensehen nach. Die gesamte Orientierungskette spielt sich über eine beträchtliche Entfernung in der Natur ab, die nach eigenen Beobachtungen für *Aëdes spec.* aus 5 m Entfernung zu einem verhältnismäßig geradlinigen Anflug gegen den Wind führt. Nach MARTINI (1952) soll eine maximale Anflugentfernung über 3 km liegen. Berücksichtigt man das gesamte Anflugverhalten auch bei Versuchen in der Testapparatur, so ergibt sich eine Deutung für die auftretenden Streuungen. Da die Mücken durch die Duftstoffe aktiviert werden und da durch die Turbulenz Moleküle auch in die duftfreie Luftströmung gelangen, fliegen aktivierte Tiere auch auf der Kontrollseite zur Wirtssuche an, so daß im Gegensatz zum Wahlversuchverhalten im Kohlendioxydgefälle bei den Duftstoffen der Unterschied weniger stark ausgeprägt ist. Ihre Eigenart nach einem erfolglosen Anflug den Wirt kurzfristig zu verlassen und den Anflug an einer anderen Stelle sofort zu wiederholen, führt zusammen mit der Rheotaxis zu einem „Falleneffekt". Die Mücke, die auf eine Trichteröffnung angeflogen ist, bleibt beim Abflug in der Luftströmung eine Zeitlang vor der Einströmöffnung gefangen und zeigt einen besonders schnell aufeinanderfolgenden An- und Abflug vor der duftfreien Öffnung, wodurch die registrierte Anflughäufigkeit auf die Kontrolle und die Streuung erhöht wird. Diese Verhaltensbeobachtungen haben sich erst während der Versuche ergeben und müssen bei der Wahl eines neuen Testverfahrens berücksichtigt werden. Trotzdem bot das verwendete Testverfahren gegenüber den von SCHAERFFENBERG u. KUPKA, BROWN, RAHM u. a. verwendeten Methoden Vorteile, vor allem aber die Möglichkeit, den Einfluß der Duftstoffe für sich zu kontrollieren. Es ist wiederholt versucht worden, die krankheitsübertragenden Mücken mit Köderfallen zu fangen. Die erfolgreichen Versuche von REEVES (1953) mit Kohlendioxyd brachten aber nicht die gewünschten und für eine Bekämpfung notwendigen zahlreichen Fänge. DETHIER (1947) gibt für Kohlendioxyd- und Lichtfallen an, daß keine besseren Ergebnisse als mit Tierköderfallen erreicht wurden, bei denen der normale Ablauf der Suchreaktion gewährleistet ist. Bei gebotenen Einzelkomponenten ist stets mit einer geringeren Wirkung zu rechnen. Fallen, die nicht mit lebenden Tieren beschickt werden, müßten neben den Duftstoffen auch die unmittelbar richtenden Faktoren Kohlendioxyd, Temperatur und Feuchtigkeit bieten, um erfolgreich zu arbeiten. Mit Duftstoffen allein wird man wohl ebensowenig ausreichende Mengen anlocken können, wie ausschließlich mit Kohlendioxyd.

Zusammenfassung

1. In einem *Olfaktometer* wird zunächst die Flugaktivität und die Anflughäufigkeit weiblicher *Aëdes aegypti* auf eine einen Luftstrom

entsendende Trichteröffnung in Abhängigkeit vom *Alter*, bzw. von einer entsprechend langen Gefangenschaft ohne Blutnahrung, von der *Temperatur* und *Feuchtigkeit* geprüft. Flugaktivität und Anflughäufigkeit erhöhen sich mit steigender Temperatur, während sie durch die Versuchsraumfeuchtigkeit nur geringfügig beeinflußt werden. Die Anflüge verstärken sich mit wachsendem Temperatur- und Feuchtigkeitsanstieg zur Anlockfläche.

2. Der Zusatz von *Kohlendioxyd* wirkt auf die Mücken aktivierend und sein Konzentrationsgefälle richtend, selbst seitlich zur Luftströmung und vom Temperatur- und Feuchtigkeitsmaximum fort zur Kohlendioxydquelle hin.

3. Unter günstigen und konstanten Bedingungen (Luftströmung, Temperatur, Feuchtigkeit) wird im Olfaktometer die *Duftwirkung* von *Blut*, *Rinderserum*, *Schweiß* (von Mensch und Pferd), *Männer-* und *Frauenharn* nachgewiesen. Versuche mit einem der natürlichen Zusammensetzung etwa entsprechenden *Kunstschweiß* sind nur bei starker Verdünnung erfolgreich. *Vakuumdestillate* von Blut und Harn zeigen in 1%iger wäßriger Lösung eine positive Wirkung auf die Mückenorientierung, doch bleibt in allen Fällen auch der Destillationsrückstand schwach wirksam.

4. Für einige *Aminosäuren* können in γ-Mengen für Tyrosin und die Gemische Serin und Threonin, Asparaginsäure und Glutaminsäure, sowie Prolin und Histidin eine deutlich positive Wirkung gezeigt werden, während für Methionin und die Gemische Glykokoll, Alanin, Valin und Leucin sowie Arginin und Lysin keine deutliche Reaktion festzustellen ist.

5. Von 5 Fraktionen eines hydrolysierten und ätherextrahierten Urins zeigt diejenige, welche *phenolische Verbindungen* enthält, die stärkste positive Wirkung. Von den *Papierchromatogramm*-Streifen dieser Fraktion wirkt diejenige Zone besonders stark, die *Oestrogene* enthält.

6. Reines *Phenol* schreckt die Mücken ab, während sie auf die 3 Diphenole *Brenzkatechin*, *Resorcin* und *Hydrochinon* eindeutig positiv aber verschieden stark reagieren.

7. Lösungen reiner Oestrogenpräparate, die *Oestron*, *3,17 β-Oestrodiol*, *3,16α-*, *17 β-Oestriol* und *Equilenin* in Mengen von 50γ bis $10^{-2}\gamma$ pro Kubikzentimeter enthalten, wirken auf Filtrierpapier zur Verdampfung gebracht anlockend auf die Mücken. Beim Oestriol nimmt die Reaktion bei $10^{-2}\gamma$-Substanz noch nicht ab. *Androstandion 3,17*, in $2{,}6 \cdot 10^{-1}\gamma$ bis $2{,}6 \cdot 10^{-7}\gamma$ aufgetragen, beeinflussen die Tiere ebenfalls positiv.

8. Demnach dürften mehrere Duftstoffe nebeneinander für die Wirtsorientierung eine Rolle spielen, von denen Substanzen aus der Gruppe der *Steroide*, der *Diphenole* und der *Aminosäuren* besonders Beachtung verdienen.

9. Anders als bei Kohlendioxyd orientieren sich die Mücken in den Duftstoffversuchen nicht nach einem *Duftgefälle*, sondern fliegen, durch die Duftmoleküle im Versuchsraum aktiviert, gegen die Luftströmung. Es scheint aber eine Korrelation zwischen dem Aktivierungsgrad und der *Duftstoffkonzentration* zu bestehen.

Literatur

Bässler, U.: Versuche zur Orientierung der Stechmücken: Die Schwarmbildung und die Bedeutung des Johnstonschen Organs. Z. vergl. Physiol. **41**, 300—330 (1958).

Bar-Zeev, M.: The effect of density on larvae of a mosquito and its influence on fecundity. Bull. Res. Council Israel, Sect. B **6**, 220—228 (1957).

— The effect of temperature on the growth rate and survival of the immature stages of Aëdes aegypti (L.). Bull. ent. Res. **49**, 157—163 (1958).

Bates, M.: The natural history of mosquitoes. New York: MacMillan Co. 1949, 379 pp.

Braun, G.: Die Entwicklung der Gelbfiebermücke Aëdes aegypti L. unter Zuchtbedingungen. Unveröffentlichte Zulassungsarbeit, Tübingen, Zoologisches Institut, 1955.

Brown, A. W. A.: Studies on the responses of the female Aëdes mosquito. Part IV: Field experiments on Canadian species. Bull. ent. Res. **42**, 575—582 (1951).

— Studies on the responses of female Aëdes mosquito. Part VI: The attractiveness of coloured cloths to Canadian species. Bull. ent. Res. **45**, 67—78 (1954).

— D. S. Sarkaria and R. P. Thompson: Studies on the responses of the female Aëdes mosquito. Part I: The search for attractant vapour. Bull. ent. Res. **42**, 105—114 (1951).

Bull, C. D., and B. D. Reynolds: Preferential feeding experiments with Anopheline mosquitoes. II. Amer. J. Hyg. **4**, 109—118 (1924).

Burges, L., and A. W. A. Brown: Studies on the responses of the female Aëdes mosquito. Part VIII: The attractiveness of beef blood to Aëdes aegypti L. Bull. ent. Res. **48**, 783—793 (1957).

Crumb, S. E.: A mosquito attractant. Science **55**, 446—447 (1922).

Dethier, V. G.: Chemical insect attractant and repellents. London: H. K. Lewis & Co. 1947.

Eucken, A.: Grundriß der Physikalischen Chemie, 5. Aufl. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft, Becke & Erler 1942.

Flaschenträger, B., u. F. Lehnartz: Physiologische Chemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.

Grassi, B.: Die Malariastudien eines Zoologen. Jena: Gustav Fischer 1901.

Haddow, A. J.: The mosquito fauna and climate of native huts at Kisuum, Kenya. Bull. ent. Res. **33**, 91—142 (1942).

Haufe, W. O.: The effects of atmospheric pressure on the flight responses of Aëdes aegypti L. Bull. ent. Res. **45**, 507—526 (1954).

Headlee, T. J.: Mosquito work in New Jersey for the year 1933. Proc. New Jersey Mosq. Ext. Ass. **21**, 8—37 (1934).

— Some facts underlaying the attraction of mosquitoes to sources of radiant energy. J. econ. Entom. **30**, 309—312 (1937).

Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer Bd. III, 1955; Bd. V, 1953.

Hoskins, W. N., and R. Craig: The olfactory responses of flies in a new type of insect olfactometer. I. Theory and design of the olfactometer. J. econ. Entom. **27**, 1029—1036 (1934).

Howlett, F. M.: The influence of temperature upon biting of mosquitoes. Parasitology **3**, 479—484 (1910).

Kennedy, J. S.: The visual responses of flying mosquitoes. Proc. Zool. Soc. Lond. **109**, 221—242 (1939).

Khan, M. A.: Canad. J. Zool. **35**, 189 (1957). Zit. U. Rahm, Schweiz. med. Wschr. **88**, 634—639 (1958b).

Koller, S.: Statistische Auswertmethoden. In: Biochemisches Taschenbuch. Berlin-Göttingen-Heidelberg:: Springer 1956.

Laarman, J. J.: The hostseeking behaviour of malaria mosquito Anopheles maculipennis atroparvus. Diss. Utrecht 1955. 144 pp.

Lavoipierre, M. M. J.: Presence of a factor inhibiting biting in Aëdes aegypti. Nature (Lond.) **182**, 1567—1568 (1958).

Linder, A.: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure, 2. Aufl. Basel: Birkhäuser 1951.

Long, D. M. de: Mündliche Mitteilung. Zit. D. G. Peterson u. A. W. A. Brown 1951. Bull. ent. Res. **42**, 535—541 (1949).

Long, D. M. de, R. H. Davidson, R. L. Peffly and C. E. Venard: A study of the action of insects repellents in terms of their effects on insects behaviour and in relation to their properties. Nat. Res. Council, Insect Control Committee, Washington. Rep. 176, 1945.

— — — — Insect behaviour: Mosquito attraction and repellency. Final summary report. Project 272. Office of the Quartermaster General, Washington 1949.

Lumsden, W. H. R.: The activity cycle of domestic Aëdes aegypti L. in southern province, Tanganyika. Bull. ent. Res. **48**, 769—782 (1957).

Martini, E.: Lehrbuch der medizinischen Entomologie, 4. Aufl. Jena: Gustav Fischer 1952.

—, u. E. Teubner: Über das Verhalten von Stechmücken besonders von Anopheles maculipennis bei verschiedenen Temperaturen und Luftfeuchtigkeiten. Beih. 1 Z. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **37**, 80 (1933).

Meillon, B. de: Publ. S.Afr. Inst. med. Res. **35**, 358 (1935). Zit. U. Rahm, Schweiz. med. Wschr. **88**, 634—639 (1958b).

Muirhead-Thomson, R. C.: The distribution of Anopheles mosquito bites among different age groups. Brit. med. J. **1951 I**, 1114—1117.

Parker, A. H.: Stimuli involved in the attraction of Aëdes aegypti to man. Bull. ent. Res. **39**, 387—397 (1948).

— The effect of a difference in temperature and humidity on certein reactions of female Aëdes aegypti. Bull. ent. Res. **43**, 221—229 (1952).

Peterson, D. G., and A. W. A. Brown: Studies on the responses of the female Aëdes mosquito. Part III: The response of Aëdes aegypti L. to a warm body and its radiation. Bull. ent. Res. **42**, 535—541 (1951).

Rahm, U.: Zum Problem der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen. Acta trop. (Basel) **13**, 319—344 (1956).

— Zur Bedeutung des Duftes und des Schweißes bei der Attraktion von Aëdes aegypti durch den Menschen. Acta trop. (Basel) **14**, 208—217 (1957a).

— Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen. Rev. suisse Zool. **64**, 236—246 (1957b).

— Die attraktive Wirkung der vom Menschen abgegebenen Duftstoffe auf Aëdes aegypti L. Z. Tropenmed. Parasit. **9**, 146—156 (1958a).

Rahm, U.: Besitzt Vitamin B_1 insektenabhaltende Eigenschaften? Schweiz. med. Wschr. **88**, 634—639 (1958b).

Reeves, W. C.: Quantitative field studies on a carbon-dioxide chemotropism of mosquitoes. Amer. J. trop. Med. Hyg. **2**, 325—331 (1953).

Reuter, J.: Orienterend onderzoek naar de oorzaak van het gedrag van Anopheles maculipennis Meig. by de voedselkeuze. Acad. Proefschr. Leiden 1936, 118 S.

Ribbands, C. R.: Studies on the attractiveness of human population in Anophelines. Bull. ent. Res. **40**, 227—238 (1949).

Rudolfs, W.: Chemotropism of mosquitoes. Bull. New Jersey agric. Exp. Stat. No 367 (1922).

Schaerffenberg, B., u. E. Kupka: Untersuchungen über die geruchliche Orientierung blutsaugender Insekten. I. Über die Wirkung eines Blutduftstoffes auf Stomoxys und Culex. Öst. zool. Z. **3**, 410—424 (1951).

— — Der attraktive Faktor des Blutes für blutsauende Insekten. Naturwissenschaften **46**, 457—458 (1959).

Schneider, D.: Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners Bombyx mori L. Z. vergl. Physiol. **40**, 8—41 (1957).

Schwink, I.: Experimentelle Untersuchungen über Geruchsinn und Strömungswahrnehmung in der Orientierung bei Nachtschmetterlingen. Z. vergl. Physiol. **37**, 19—56 (1954).

Shannon, W. R.: Minn. Med. **26**, 799 (1943). Zit. U. Rahm, Schweiz. med. Wschr. **88**, 634—639 (1958b).

Singh, K. R. P., and A. W. A. Brown: Nutritional requirements of Aëdes aegypti L. J. ins. Physiol. **1**, 199—220 (1957).

Sippell, W. L., and A. W. A. Brown: Studies on the response of the female Aëdes mosquito. Part V: The role of visual factors. Bull. ent. Res. **43**, 567—574 (1953).

Smart, M. R., and A. W. A. Brown: Studies on the responses of the female Aëdes mosquito. Part VII: The effect of skin temperature, hue and moisture on the attractiveness of the human hand. Bull. ent. Res. **47**, 89—100 (1956).

Struck, H.: Papierchromatographische Trennung der Oestrogene. Naturwissenschaften **45**, 41—42 (1958).

Thiel, P. H. van: Quelles sont les excitations incitant l'Anopheles maculipennis à visiter et à piquer l'homme ou le bétail? Bull. Soc. Path. exot. **30**, 193—203 (1937).

— Attraction excercée sur Anopheles maculipennis atroparvus par l'acide carbonique dans un olphactomètre. Acta trop. (Basel) **4**, 10—20 (1947).

Thomas, T. C. E.: Biting activity of Anopheles gambiae. Brit. med. J. **1951**, 1402.

Thompson, R. R., and A. W. A. Brown: The attractiveness of human sweat to mosquitoes and the role of carbon dioxide. Mosquito News **15**, 80—84 (1955).

Waetherbee, A. A.: Observations on the relative attractiveness of men and horse for Anopheles albimanus Wiedemann. Amer. J. trop. Med. **24**, 25—28 (1944).

Wieting, J. O., and W. M. Hoskins: The olfactory responses of flies in a new type of insect olfactometer. J. econ. Entom. **32**, 24—29 (1939).

Willis, E. R., and L. M. Roth: Reactions of Aëdes aegypti to carbondioxide. J. exp. Zool. **121**, 149—179 (1952).

Zimmermann, W.: Chemische Bestimmungsmethoden von Steroidhormonen in Körperflüssigkeiten. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. 199 S.

Dr. Heinz Peter Roessler, Zoologisches Institut der Universität, Tübingen, Hölderlinstr. 12

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 232—236 (1961)

Zoologisches Institut der Universität des Saarlandes

UNTERSUCHUNGEN AM HERZSCHLAG VON EMBRYONEN UND IMAGINES DER WANDERHEUSCHRECKE (LOCUSTA MIGRATORIA MIGRATORIOIDES R. ET F., ORTHOPTEROIDEA)

Von

E. Schlabritzky

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Oktober 1960)

Bei hormonphysiologischen Arbeiten ergab sich die Frage, wie die Dorsalkontraktionen der Embryonen von Wanderheuschrecken gemessen und registriert werden können, ohne das Ergebnis durch eine mechanische Reizung der Versuchstiere zu beeinflussen. Hierfür wurde eine Versuchsanordnung entwickelt und in der vorliegenden Arbeit beschrieben. Außerdem konnte mit ihrer Hilfe die Frequenz der Dorsalkontraktionen im Verlauf der Embryonalentwicklung festgestellt, sowie der Phasenverlauf des Herzschlages erwachsener Heuschrecken mit dem von Embryonen verglichen werden.

Material und Methode

Versuchstiere waren Embryonen und Imagines, wobei die letzteren sich ebenso wie die zur Zucht verwandten Wanderheuschrecken in der gregaria-Phase befanden. Zur genauen Altersbestimmung wurden die in Glasbehälter mit feuchtem Sand abgelegten Eier im Thermostaten bei 27° C ausgebrütet. Am 18. Tag nach der Eiablage schlüpften die Larven. Es zeigte sich, daß die Embryonen bis zu einem halben Tag von dem durchschnittlichen Entwicklungsstadium innerhalb eines Eigeleges abweichen können. Solange noch Dotter vorhanden ist, läßt sich dieser Unterschied durch die Messung des Verhältnisses Länge des Embryos: Länge des Dottersackes leicht feststellen und in den Versuchen berücksichtigen. Später bietet der Grad der Pigmentierung einen guten Anhalt für die Altersbestimmung.

Um die Dorsalkontraktionen des Embryos beobachten zu können, wurde das Chorion des Eies nach der Methode von E. Slifer (1932) mit Natriumhypophosphat-Lösung entfernt. Nach mehrmaligem Waschen in Aqua dest. kamen die Eier in Hohlglasblöcke (ø = 4 cm) mit modifizierter Ringerlösung nach K. Bělař (1929) (0,9% NaCl; 0,02% KCl; 0,02% $CaCl_2$; gepuffert mit isotonischem Natriumphosphatpuffer auf p_H 6,6).

Für die Untersuchungen wurde ein Zeiß-Mikroskop verwandt, das in einem Wärmekasten stand. Die Temperatur von 27° C, gemessen mit einem Kontaktthermometer in der Ringerlösung, ließ sich auf 0,5° C konstant halten. Am Mikroskop war die Beleuchtungs-Meßeinrichtung von Zeiß angebracht. Das Ei wurde nun so gelegt, daß jede Dorsalbewegung des Embryos sich in einer Verdunkelung bzw. Aufhellung des mikroskopischen Blickfeldes, und somit auch in einer entsprechenden Veränderung des Photozellenstromes äußerte. Dieser Strom, verstärkt in dem vierstufigen Lichtmeßgerät (Zeiß), wurde zum Gleichspannungs-

schreiber *Enograph-G* (Firma Rohde u. Schwarz[1]) geleitet. Durch Lichtfilter und Objektivwahl am Mikroskop bzw. durch unterschiedliche Verstärkung am Lichtmeßgerät konnte die Amplitudenhöhe zweckmäßig eingestellt werden. Sie bietet zwar kein exaktes Maß für die Intensität der Dorsalkontraktionen; deren Art und Zahl läßt sich jedoch mit dieser Versuchsanordnung ohne jede mechanische Reizung des Embryos feststellen. Das Licht der Niedervoltlampe hat, wie entsprechende Untersuchungen zeigten, keinen Einfluß. Die Einzelversuche dauerten jeweils 10—30 min.

Ergebnisse der Versuche

Die Dorsalkontraktionen beginnen kurz vor der Blastokinese zu dem Zeitpunkt, an dem die embryonalen Keimhüllen reißen (Abb. 1). Im Gegensatz zu den Beobachtungen von V. Thompson (1937) bei Melanoplus differentialis und M. femur rubrum sind sie am Anfang zwar

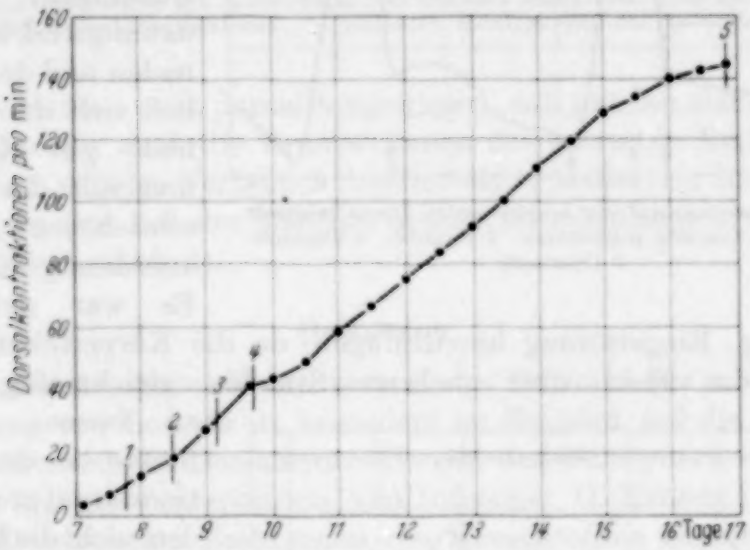


Abb. 1. Anzahl der Dorsalkontraktionen im Verlauf der embryonalen Entwicklung von Locusta migratoria *1* Ende der Blastokinse; *2* Dotter zur Hälfte verbraucht; *3* Dotter zu $^3/_4$ verbraucht; *4* Dotter völlig verbraucht; *5* Zeitpunkt des Schlüpfens (jeder Punkt = 9 Einzelversuche)

langsam, aber durchaus regelmäßig. Im weiteren Verlauf der Embryonalentwicklung steigt die Anzahl der Kontraktionen je Minute ständig. Lediglich nach Verbrauch des Dotters und kurz vor dem Schlüpfen tritt eine kleine Verzögerung ein, die auch von V. Thompson bei Melanoplus beobachtet wurde.

Von besonderem Interesse ist der Phasenverlauf im Zyklus der Herzaktivität. Abb. 2 zeigt, daß beim Embryo nach der Systole eine stark ausgeprägte Diastole eintritt, bei der sich das Rückengefäß mehr ausdehnt, als es zu Beginn der Systole der Fall war. Während der nun

[1] Das Gerät wurde mir freundlicherweise von dem Institut für angewandte Physik und Elektronik der Universität des Saarlandes zeitweilig zur Verfügung gestellt.

folgenden Diastasis tritt ein langsames Zusammenziehen ein, an das sich dann wieder die nächste Systole mit einer kräftigen Kontraktion anschließt.

Zum Vergleich hierzu wurde der Phasenverlauf der Herzaktivität bei erwachsenen Wanderheuschrecken untersucht. Zu diesem Zweck wurden Imagines betäubt, die Abdomina abgetrennt und auf einem Wachsring mit den Tergiten nach unten befestigt. Nach Abschneiden der Sternite, Ausräumen des Verdauungstraktes, der Gonaden und der Tracheen ließ sich die Herztätigkeit gut beobachten und mit der oben beschriebenen Registrieranordnung aufzeichnen. Es war dabei nicht notwendig, Ringerlösung hinzuzufügen, da die Körperflüssigkeit ausreichte, das Herz über mehrere Stunden gleichmäßig schlagen zu lassen. Allerdings mußte bei der Präparation darauf geachtet werden, nicht die Flügelmuskeln zu durchtrennen, da sonst der Herzschlag unregelmäßig wurde und nach kurzer Zeit (etwa 10 min) aussetzte. Diese Beobachtung wurde auch von H. Unger (1957) bei Versuchen mit Periplaneta americana gemacht.

Abb. 2. Phasenverlauf der embryonalen Dorsalkontraktionen von Locusta migratoria. *1* Systole; *2* Diastole; *3* Diastasis

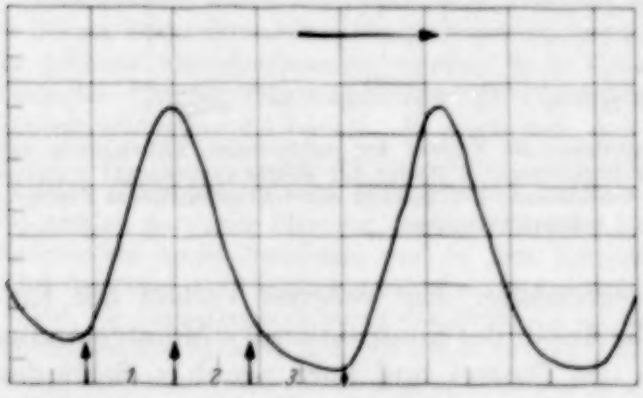


Abb. 3. Phasenverlauf des Herzschlages von Locusta migratoria im Imaginalstadium. *1* Systole; *2* Diastole; *3* Diastasis

Die auf diese Weise gewonnene Herzkurve der erwachsenen Wanderheuschrecke (Abb. 3) unterscheidet sich deutlich von der eines Embryos. Während bei letzterem als Folge der vorhergehenden starken Ausdehnung während der Diastasis eine leichte Kontraktion eintrat, zeigt sich bei der Imago in dieser Phase eine weitere Erschlaffung des Herzschlauches.

Das gleiche Resultat erhielt J. YEAGER (1938) bei einer Untersuchung des isolierten Herzens der adulten Periplaneta. Außerdem beobachtete YEAGER kurz vor dem Eintreten der Systole eine plötzlich weitere Dilatation. Dies trat bei Locusta nur selten auf.

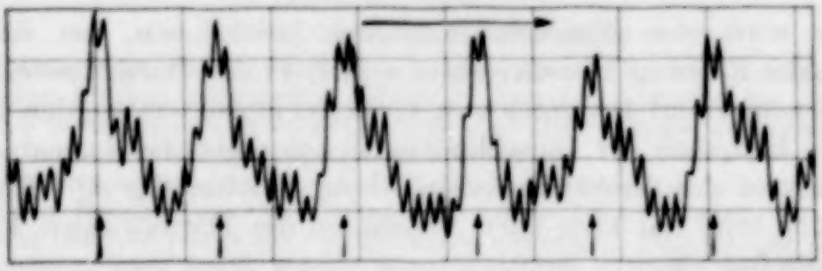


Abb. 4. Pumpbewegungen bei Embryonen von Locusta migratoria. Die kleinen Zacken der Kurve sind Dorsalkontraktionen, ↓ bedeutet Kontraktion des gesamten Embryos

Zum Schluß sei noch darauf hingewiesen, daß mit der oben beschriebenen Apparatur auch die Kontraktionen des gesamten Embryos, die kurz vor dem völligen Verbrauch des Dotters einsetzen, bis zum Schlüpfen andauern und mit der Darmperistaltik übereinstimmen, registriert werden können (Abb. 4).

Diskussion

Der unterschiedliche Phasenverlauf des Herzschlages während der Entwicklung von Locusta ist besonders im Hinblick auf die Frage, ob bei Heuschrecken die Dorsalkontraktionen der Embryonen dem Herzschlag der Imagines entsprechen, von Interesse. O. NELSON (1931) vermutet, daß es sich bei Embryonen von Heuschrecken um Bewegungen der Herzanlage handelt, die später in den eigentlichen Herzschlag übergehen. V. THOMPSON (1937) schließt sich dieser Ansicht an. Mechanographische und elektrokardiographische Untersuchungen am Herzen von Melanoplus differentialis wurden 1938 von F. CRESCITELLI und TH. L. JAHN angestellt. Sie betonen, daß sich das EKG einer erwachsenen Heuschrecke deutlich von dem eines Embryos unterscheidet. Auf Einzelheiten der mechanographischen Aufzeichnungen gehen sie nicht ein. Die oben angeführten Versuche zeigen jedoch, daß sich bei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Wanderheuschrecke auch die Phase der Diastasis während der Entwicklung ändert.

CRESCITELLI und JAHN äußern die Vermutung, daß dem von ihnen beobachteten Unterschied der EKG auch ein solcher der Funktion entsprechen müsse. Dies wird durch eine Feststellung von E. SLIFER (1932) bei Melanoplus wahrscheinlich gemacht. Die Autorin fand: "The contractions appear long before striated muscles are present as such" (S. 149).

Diese Resultate müssen besonders beim Vergleich von Ergebnissen physiologischer Arbeiten an Insekten verschiedener Entwicklungsstadien berücksichtigt werden.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Versuchsanordnung beschrieben, bei der ohne mechanische Reizung Phasenverlauf und Zahl der Dorsalkontraktionen bei Embryonen und Imagines von Insekten registriert werden können.

2. Die Frequenz der Dorsalkontraktionen steigt bei Locusta migratoria während der Embryonalentwicklung gleichmäßig an. Eine Verlangsamung tritt nur kurz nach Verbrauch des Dotters sowie kurz vor dem Schlüpfen ein.

3. Die Phase der Diastasis unterscheidet sich bei Embryonen und Imagines von Locusta migratoria.

Literatur

Albrecht, F. O.: The anatomy of the migratory locust. University of London, Athlone Press 1953.

Bělař, K.: Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Untersuchungen an den Spermatocyten von Chorthippus (Stenobothrus) lineatus Panz. Arch. Entwickl.-Mech. Org. **118**, 359—484 (1929).

Crescitelli, F., and T. L. Jahn: Electrical and mechanical aspects of the grasshopper cardiac cycle. J. cell. comp. Physiol. **11**, 359—376 (1938).

Muralt, A. v.: Einführung in die Praktische Physiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1948.

Nelson, O. E.: Life cycle, sex differentiation, and testis development in Melanopus differentialis (Acridiae, Orthoptera). J. Morph. and Physiol. **51**, 467—525 (1931).

Roonwal, M. L.: III — Studies on the embryology of the African migratory locust, Locusta migratoria migratorioides Reiche et Frm. (Orthoptera, Acrididae). II — Organogeny. Phil. Trans. B **227**, 176—243 (1937).

Slifer, E. H.: Insect development. IV. External morphology of grashopper embryos of known age and with a known temperature history. J. Morph. **53**, 1—21 (1932).

Thompson, V.: Effects of temperature on movement, embryos of Acrididae. Physiol. Zool. **10**, 21—30 (1937).

Unger, H.: Untersuchungen zur neurohormonalen Steuerung der Herztätigkeit bei Schaben. Biol. Zbl. **76**, 204—225 (1957).

Yeager, J. F.: Mechanographic method of recording insect activity, with reference to effect of nicotine on isolated heart preparations of Periplaneta americana. J. agric. Res. **56**, 267—276 (1938).

Dr. E. Schlabritzky, Zoologisches Institut der Universität des Saarlandes, Saarbrücken 15

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und ohne inhaltliche Wiederholung geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Knappe, klare Figurenunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text; sie sind auf einem gesonderten Blatt dem Manuskript beizufügen. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in Ausnahmefällen Aufnahme finden. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden, transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

10. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

11. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten, mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt, und geleitet hat oder wem die Mittel verdankt werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Diese Resultate müssen besonders beim Vergleich von Ergebnissen physiologischer Arbeiten an Insekten verschiedener Entwicklungsstadien berücksichtigt werden.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Versuchsanordnung beschrieben, bei der ohne mechanische Reizung Phasenverlauf und Zahl der Dorsalkontraktionen bei Embryonen und Imagines von Insekten registriert werden können.

2. Die Frequenz der Dorsalkontraktionen steigt bei Locusta migratoria während der Embryonalentwicklung gleichmäßig an. Eine Verlangsamung tritt nur kurz nach Verbrauch des Dotters sowie kurz vor dem Schlüpfen ein.

3. Die Phase der Diastasis unterscheidet sich bei Embryonen und Imagines von Locusta migratoria.

Literatur

Albrecht, F. O.: The anatomy of the migratory locust. University of London, Athlone Press 1953.

Bělař, K.: Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Untersuchungen an den Spermatocyten von Chorthippus (Stenobothrus) lineatus Panz. Arch. Entwickl.-Mech. Org. **118**, 359—484 (1929).

Crescitelli, F., and T. L. Jahn: Electrical and mechanical aspects of the grasshopper cardiac cycle. J. cell. comp. Physiol. **11**, 359—376 (1938).

Muralt, A. v.: Einführung in die Praktische Physiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1948.

Nelson, O. E.: Life cycle, sex differentiation, and testis development in Melanopus differentialis (Acridiae, Orthoptera). J. Morph. and Physiol. **51**, 467—525 (1931).

Roonwal, M. L.: III — Studies on the embryology of the African migratory locust, Locusta migratoria migratorioides Reiche et Frm. (Orthoptera, Acrididae). II — Organogeny. Phil. Trans. B **227**, 176—243 (1937).

Slifer, E. H.: Insect development. IV. External morphology of grashopper embryos of known age and with a known temperature history. J. Morph. **53**, 1—21 (1932).

Thompson, V.: Effects of temperature on movement, embryos of Acrididae. Physiol. Zool. **10**, 21—30 (1937).

Unger, H.: Untersuchungen zur neurohormonalen Steuerung der Herztätigkeit bei Schaben. Biol. Zbl. **76**, 204—225 (1957).

Yeager, J. F.: Mechanographic method of recording insect activity, with reference to effect of nicotine on isolated heart preparations of Periplaneta americana. J. agric. Res. **56**, 267—276 (1938).

Dr. E. Schlabritzky, Zoologisches Institut der Universität des Saarlandes, Saarbrücken 15

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und ohne inhaltliche Wiederholung geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Knappe, klare Figurenunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text; sie sind auf einem gesonderten Blatt dem Manuskript beizufügen. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in Ausnahmefällen Aufnahme finden. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden, transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

10. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

11. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten, mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt, und geleitet hat oder wem die Mittel verdankt werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Diurese und Diuretica

Ein internationales Symposion

Diuresis and Diuretics

An International Symposium

Veranstaltet mit Unterstützung der CIBA in Herrenchiemsee,
17.—20. Juni 1959. Leitung: Professor Dr. HERBERT SCHWIEGK, München

Herausgegeben von Dozent Dr. EBERHARD BUCHBORN, München,
und Dr. KLAUS DIETRICH BOCK, Basel

Mit 88 Abbildungen. XII, 382 Seiten 8°. 1959. (Mit 4 Beiträgen in englischer Sprache. Jedem Beitrag folgt eine Zusammenfassung in deutscher, englischer und französischer Sprache.) Ganzleinen DM 25,50

AUS DEN BESPRECHUNGEN

„Die Einführung vieler neuerer Diuretika, die den Elektrolythaushalt stärker beeinflussen als die älteren Präparate, und ihre häufige Verwendung durch den Praktiker, aber auch die neueren Untersuchungen über Physiologie und Pharmakologie der Niere in bezug auf die Diurese machten es notwendig, das ganze Problem der Nierenphysiologie und Pathologie nach der Richtung hin zu überdenken. Das in Herrenchiemsee mit Unterstützung der Ciba, unter der Leitung von SCHWIEGK abgehaltene internationale Symposion nimmt zu all diesen Problemen Stellung, wobei die bedeutendsten Nierenforscher bei diesem Symposion anwesend waren. Es war ein glücklicher Gedanke, die Vorträge und die Diskussionsvoten in einem kleinen Werk den Praktikern zugänglich zu machen. Am Ende eines jeden Vortrages sind Zusammenfassungen in drei Sprachen vorhanden. Es wird in dem Buch Stellung genommen zur Nierendurchblutung und Diurese, zur Harnkonzentrierung in der Physiologie und Klinik, zur Ionenverteilung und dem Ionenaustausch in der Niere, den enzymatischen Vorgängen bei der Harnbereitung, der Pharmakologie der Diuretika und ihren Nebenwirkungen, den Diuretika bei Leber- und Nierenkrankheiten wie auch in der Geburtshilfe und den blutdrucksenkenden Eigenschaften einiger Diuretika. Jedem Arzt, der die Diuretika verordnet, kann dieses kleine Buch nicht warm genug empfohlen werden."

Therapeutische Umschau und medizinische Bibliographie

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany